



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACEÚTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA FARMACEÚTICAS

**Estudio comparativo de la Capacidad Humectante
de la piel
de activos cosméticos naturales respecto al aceite
de Emú utilizando el Corneometer® CM 825.**

**MEMORIA PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE**

PABLO ANDRÉS CÁCERES TAPIA

Director de memoria:

Prof. Q.F. Olosmira Correa B.
Dpto. Ciencias y Tecnología
Farmacéuticas.

Patrocinante:

Prof. Q.F. Edda Costa
Depto. Ciencias y Tecnología
Farmacéuticas.

Santiago, Chile

2006

A mi madre, por darme la vida, mi educación y su amor incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Primero que todo darle gracias a Dios por darme esta gran oportunidad, y a mi madre que gracias a su esfuerzo y amor me dio esta gran oportunidad de estudiar y ser su orgullo en esta vida, además de darme siempre su apoyo en todo momento con el fin de alcanzar esta gran meta.

Segundo, quisiera agradecer a mis compañeros, tanto a los que quedaron en el camino como a los que siguieron para poder sacar adelante y con harto esfuerzo una de las más difíciles pero hermosa carrera llamada Química y Farmacia; en especial a Xime, Paola y Gricel que estuvieron desde el primer día en que fuimos “mechones” en la U junto a mí. También quiero agradecer a Victor Cares, Mary, Evelyn, Pepe, Alejandro, Chon, Valle, Garrido, Black, Pipo y Juan Pablo por haber compartido estos últimos años junto a mí, donde realmente comprobé que los mejores amigos se conocen en la Universidad y, ustedes son una de las grandes cosas que rescato de esta bella experiencia en mi paso por esta Casa de Estudios. Gracias chiquillos por su amistad, jamás los olvidaré.

Gracias a todos los voluntarios que participaron en este estudio, realmente formaron parte muy importante dentro de mi trabajo y les estaré eternamente agradecido.

Gracias a mis hermanos por estar pendientes de mis logros y ayudarme en variadas maneras a seguir adelante.

Agradezco a la profesora Olosmira Correa por su tiempo, paciencia y orientación, lo cual fue una valiosa ayuda para terminar mi trabajo, sin su ayuda esto hubiera sido mucho más difícil de lo que ya fue. Agradezco también a la profesora Edda Costa por su tiempo y buena disposición para apoyar mi tesis. A don Luis Rodríguez por ayudarme en el análisis estadístico, el cual gracias a su muy buena disposición y voluntad despejó todas nuestras dudas para poder concluir este estudio de buena forma.

También agradezco a Marta por darme su amor y su tiempo, además por ser uno de los pilares de apoyo en mi vida y en los momentos difíciles, y por acompañarme durante casi todo este largo camino hasta esta gran meta...gracias.

INDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
INDICE GENERAL.....	iv
INDICE DE TABLAS.....	vi
INDICE DE FIGURAS.....	vii
INDICE DE ANEXOS.....	viii
RESUMEN.....	ix
SUMMARY.....	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	8
3. OBJETIVOS	
3.1.- Objetivo general.....	8
3.2.- Objetivos específicos.....	8
4. MATERIALES Y MÉTODOS	
4.1 - Materiales.....	9
4.2.- Metodología de trabajo.....	10
4.2.1.- Desarrollo de las emulsiones.....	10
4.2.2.- Evaluación de las características de calidad de las emulsiones.....	11

4.2.3.- Ensayos de evaluación de estabilidad.....	11
4.2.4.- Evaluación de la capacidad humectante.....	12
4.2.5.- Estabilización de las emulsiones.....	13
4.2.5.1.- Protocolo de investigación estudio agudo.....	13
4.2.6.- Análisis estadístico de valores de capacitancia eléctrica....	14
5. RESULTADOS	
5.1.- Estudios de estabilidad de las emulsiones.....	16
5.1.1 - Estudio de estabilidad en estantería.....	16
5.1.2 - Estudio de estabilidad acelerada.....	16
5.2.- Controles de calidad.....	17
5.2.1.- Controles fisicoquímicos.....	17
5.3.- Estabilización de las emulsiones.....	18
5.3.1 - Estudio de estabilidad en estantería.....	19
5.3.2 - Estudio de estabilidad acelerada.....	19
5.3.3 – Controles fisicoquímicos.....	20
5.4.- Evaluación de la capacidad humectante <i>in vivo</i>	21
6. DISCUSIÓN.....	27
7. CONCLUSIONES.....	35
8. REFERENCIAS.....	37
9. ANEXOS.....	41

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición de Ácidos Grasos del Aceite de Emú, Aceite de Rosa Mosqueta y piel humana.....	5
Tabla 2: Fórmula porcentual de las fases en las emulsiones a realizar.....	10
Tabla 3: Formulación base o/w empleada en el estudio.....	11
Tabla 4: Tabla de formulaciones a emplear en estudio de humectación <i>in vivo</i>	15
Tabla 5: Estudio de estabilidad de las emulsiones, sometidas a estudio de estabilidad en estantería a 25°C, estudio de estabilidad acelerada en estufa a 40°C.....	16
Tabla 6: Controles fisicoquímicos de las formulaciones realizadas. Características organolépticas, pH y viscosidad medidos a las 24 hrs después de su elaboración.....	17
Tabla 7: Estudio de estabilidad de las emulsiones incorporando agentes viscosantes en distintas proporciones, sometidas a estudio de estabilidad en estantería a 25°C, estudio de estabilidad acelerada en estufa a 40°C.....	19
Tabla 8: Controles fisicoquímicos de las formulaciones realizadas. Características organolépticas, pH y viscosidad medidos a las 24 hrs después de su elaboración.....	20

INDICE DE FIGURAS

Figura 5.41: Gráfico de barras de la variación de la conductancia eléctrica en los tiempos 0, 30, 60, 90 y 120 para el vehículo, emulsión con aceite de rosa mosqueta, emulsión con extracto de *Imperata cylíndrica R.*, emulsión con extracto de baba de caracol, emulsión con aceite de Emú, emulsión con aceite de Emú / rosa mosqueta, emulsión con aceite de Emú/ extracto de *Imperata cylíndrica R.* y emulsión con aceite de Emú/ baba de caracol, respecto del sitio control, valores promedio de los 19 voluntarios..... 22

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Consentimiento informado de participación.....	41
Anexo 2: Análisis estadístico de valores de capacitancia eléctrica de las emulsiones.....	44

RESUMEN

El tratamiento que se utiliza hoy día para evitar o restablecer la sequedad de la piel se basa fundamentalmente en la elaboración de productos que contengan sustancias humectantes, que son principalmente higroscópicas, y sustancias hidratantes que mejoran la capacidad de retención de la humedad mediante oclusión. Uno de los ingredientes activos que se está utilizando en variadas formulaciones es el aceite de Emú. Este un aceite de origen animal, que se obtiene de un ave del mismo nombre y al cual se le atribuye una buena capacidad humectante. Otro aceite bastante utilizado es el de rosa mosqueta (*Rosa moschata L.*), que se extrae de la semilla de la planta del mismo nombre. Actualmente se comercializa en Chile y en el mundo como aceite puro o incluido en emulsiones cosméticas. Se le atribuyen propiedades regenerativas y humectantes de la piel. Otro activo cosmético muy de actualidad es el extracto de baba de caracol (*Helix aspersa Müller*), compuesto principalmente por mucopolisacáridos y agua, debería presentar un efecto humectante, sin embargo se comercializa en nuestro país, en emulsiones regeneradoras de tejidos y atenuadoras de manchas en la piel. Otro activo nuevo en nuestro mercado es el extracto de *Imperata cilíndrica Raeuschel*. Su alto contenido de ión potasio y de 3-dimetilsulfopropionato (DMSP) aumentarían el equilibrio osmótico, produciendo un aumento de la humedad de la piel. El objetivo de este trabajo fue estudiar comparativamente la capacidad humectante del aceite de Emú incluido en una emulsión, con respecto a otras emulsiones que incluían extracto de baba de caracol (*Helix aspersa Müller*), aceite de rosa mosqueta (*Rosa moschata L.*) y extracto de *Imperata Cylíndrica R.* cada una incluida por separado en una emulsión base, de similar composición a la emulsión de aceite de Emú. Además, se evaluó si existe un aumento en la capacidad humectante al mezclar el aceite de Emú con los otros activos. Todos estos activos fueron incorporados al 5% y las mezclas de aceite de Emú y los demás activos también fueron incorporadas al 5% en total de ambas. Se le realizaron a estas emulsiones los estudios de estabilidad acelerado y de estantería, y los controles de calidad requeridos. Para mejorar la estabilidad de las emulsiones que presentaron signos de inestabilidad se incorporaron agentes viscosantes

(carboximetilcelulosa, silicato de Mg y Al, y Carbomer 934) en distintas proporciones y se sometieron a los ensayos de estabilidad en estantería (25°C) y acelerada (40°C). Con el Carbomer 934 (1%) se mejoró la estabilidad de las emulsiones, los otros viscosantes no fueron efectivos a las concentraciones utilizadas. Finalmente, se evaluó el efecto humectante de las formulaciones, que originalmente resultaron estables a 25°C, mediante un método no invasivo utilizando el Corneometer® CM 825. El estudio se realizó en 19 voluntarios sanos cuyas edades fluctuaron entre 21 y 27 años, los productos se aplicaron en los antebrazos dejando una zona control sin tratamiento. Las mediciones se realizaron a los tiempos cero, 30, 60, 90 y 120 minutos después de aplicarse los productos. Los resultados que obtenidos de la evaluación de la capacidad humectante se sometieron a un análisis estadístico. Todos los productos con activos y el vehículo resultaron ser humectantes, además, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre la emulsión de aceite de Emú y el resto de las emulsiones, exceptuando frente a la que contenía extracto de baba de caracol, la cual presentó diferencias estadísticamente significativas entre los treinta y noventa minutos. Por otra parte, la incorporación de aceite de rosa mosqueta, extracto de *Imperata cylíndrica R.* y extracto de baba de caracol junto con el aceite de Emú no produjeron un aumento en los valores de capacitancia eléctrica respecto a la emulsión de aceite de Emú. Sin embargo la asociación del aceite de Emú con estas tres sustancias logró mantener constante el valor de capacitancia eléctrica durante todo el estudio, lo que no sucedió cuando se empleó la emulsión de aceite de Emú solo.

Comparative Study of the Moisturizing Capacity of Cosmetic Ingredients and Emu Oil, utilizing the Corneometer CM 825.

SUMMARY

Nowadays, the treatment utilized for dry skin it is based fundamentally in the elaboration of products that contain moisturizing substances, those are mainly hygroscopic substances and moisturizing substances that improve the capacity of water retention by means of occlusion. One of the active ingredients that is being utilized in various formulations is Emu oil . This is an oil obtained from a bird with the same name. The main characteristic of this oil is the moisturizing effect. Another oil utilized is rosa mosqueta oil (*Rosa moschata* L.), it is extracted of the seed of a plant. At present is marketed in Chile and the world as pure oil or included in cosmetic emulsions. Rosa mosqueta oil presents regeneratives and moisturizing properties of the skin. Another very up-to-date cosmetic ingredient is the Snail's extract (*Helix aspersa Müller*), composed mainly by mucopolisaccarides and water. This extract should have a moisturizing effect, nevertheless it is marketed in our country included in an emulsion mainly by its wound healing properties and to diminish age spots, freckles and pigmented spots of the skin. Another new active substance in our market is the extract of *Imperata cylindrica Raeuschel*. It is composed by a high content of ion potassium and 3-dimethylsulphopropionate (DMSP). Which the association of these two substances would enlarge the osmotic equilibrium, producing an increase of the humidity of the skin. The objective of this work was to study comparatively the moisturizing capacity of the Emu's oil included in an emulsion, with regard to other emulsions that included Snail's Extract (*Helix aspersa Müller*), rosa mosqueta oil (*Rosa moschata* L.) and *Imperata Cylíndrica R.* extract, each one included by separated in a vehicle under the same conditions of the Emu oil emulsion. Besides it was evaluated if exists sinergic effect in the moisturizing capacity of Emu oil mixtures with the other active ingredients. All they were diluted at 5% in emulsion o/w; the Emu oil mixtures with the others active also were utilized at 5% in total. It was carried out the stability study of the emulsions at 40 °C and room temperature, and the quality control analysis required. To improve the stability of the emulsions that presented signs of separation were incorporated viscosant agents

(carboximetilcellulose, silicate of Mg and Al, and Carbomer 934) in different proportions and they were submitted to the stability test at 25°C and 40°C. Only Carbomer 934 (1%) improved the stability of the emulsions. Finally, It was evaluated the moisturizing effect of the formulations utilizing the Corneometer CM 825. The study was carried out in 19 healthy volunteers whose ages fluctuated between 21 and 27 years. The products were applied in the forearms leaving a zone control without treatment. The measurements were carried out at the times: zero, 30, 60, 90 and 120 minutes after being applied the products. The results, obtained from the evaluation of the moisturizing capacity, were submitted to a statistical analysis. It was concluded that all the products had moisturizing properties. There was not a statistically significance difference between the Emu oil emulsion and the other emulsions, except the Snail's extract emulsion at thirty and ninety minutes. Besides, the rosa mosqueta oil, extract of *Imperata cylíndrica R.* and Snail's extract mixed with the Emu oil did not produce an increase in the values of electric capacitance with respect to the Emu oil emulsion. Nevertheless the association of the Emu oil with these three substances permitted to maintain constant the value of electric capacitance during all the study, it did not happen when only Emu oil was employed.

1. INTRODUCCIÓN

La piel es el órgano más extenso del cuerpo humano, al que recubre en su totalidad ⁽¹⁾. Las características que ella posee, es decir, grosor, color, textura, no son uniformes en toda su extensión. Además de actuar como una barrera protectora contra el calor, la luz, lesiones e infecciones, la piel también cumple otras funciones como ⁽²⁾:

- Participa en la regulación de la temperatura corporal.
- Almacena agua y grasas.
- Es un órgano sensorial.
- Evita la pérdida de agua.
- Protege de las radiaciones ultravioleta.

Este órgano se encuentra constituido por tres capas: hipodermis, dermis y epidermis, las cuales tienen diferentes estructuras y funciones ^(1 - 3).

El estrato córneo de la piel humana es un área abiótica, producto final del proceso de queratinización, este estrato se encuentra constituido por células queratinizadas, las que han perdido su estructura vital. Estas células se encuentran ordenadas como ladrillos de una pared rodeados por una matriz lipídica a modo de cemento cohesionador, la fracción del estrato que se acerca a la superficie va perdiendo parte de su fuerza cohesionadora, esto permite que la descamación final se realice en forma imperceptible, es por este motivo que la función de barrera toma verdadera importancia en los corneocitos más profundos ya que estos son los que forman una barrera más compacta. Esta matriz lipídica, formada en el proceso de queratinización, recibe el nombre de lípidos epidérmicos y son hidrófilos, por ende tienen la capacidad de retener agua, mientras que los lípidos provenientes de las glándulas sebáceas, que son menos hidrófilos, tienen una función lubricante ^(1,3,4).

En cuanto a la composición de los lípidos del estrato córneo, en una piel sana, se puede decir que es única en los sistemas biológicos, la principal característica correspondería a que no contienen fosfolípidos y que particularmente están constituidos por alrededor de 41% de ceramidas, aproximadamente un 25% de colesterol libre, cerca de un 5% de sulfato de colesterol, un 10% aproximado de ésteres de colesterol y ácidos grasos libres entre un 10% y 12%^(1,5).

Estos lípidos cutáneos se sintetizan en las células de la epidermis a partir de productos intermedios del metabolismo de ácidos grasos esenciales (no sintetizados en el organismo, sino que son aportados por la dieta). Las sustancias precursoras para los lípidos se producirían en el aparato de Golgi de las células córneas en la capa espinosa superior, las que serían almacenadas intracelularmente en forma de membranas lipídicas dobles, vacuolas de membrana cerrada o cuerpos de Odland^(5,6).

En la capa superior del estrato granuloso, estos cuerpos de Odland expulsarían por exocitosis estas membranas lipídicas dobles en el espacio intercelular, las que originarían múltiples y continuas bicapas lipídicas, constituyendo así la sustancia cementante del estrato córneo. Durante esta maduración, los glicolípidos, fosfolípidos y ésteres enzimáticos polares, se transforman en lípidos no polares como ceramidas y ácidos grasos esenciales. Se ha demostrado que liposomas formados por fosfolípidos o de lípidos similares a los del estrato córneo pueden ser inducidos a aplastarse y apilarse simplemente mediante la adición de ceramidas o glucosilceramidas⁽⁵⁻⁷⁾.

Hoy en día es una preocupación constante en el mundo cosmético, el mantener una piel sana, y ésta sería el resultado, entre otros, del equilibrio entre los diferentes componentes de la piel. La piel en forma natural posee ciertos factores con capacidad de retener agua en el estrato córneo, estos proceden del sudor, sebo y del proceso de queratinización, por ejemplo la urea, ácido láctico y algunos aminoácidos, a estos componentes se les denomina factor

natural de humectación (FNH)^(1,8,9). El reestablecer la humedad en una piel seca, sería entonces el recuperar, entre otros, el equilibrio entre los componentes que otorgan humedad, como así también de los componentes grasos.

El tratamiento que se utiliza hoy día para evitar o restablecer la sequedad de la piel se basa fundamentalmente en la elaboración de productos que contengan sustancias humectantes, que son principalmente sustancias higroscópicas y sustancias hidratantes que mejoran la capacidad de retención de humedad mediante oclusión^(1,10,11).

El agua, por lo tanto, jugaría un rol muy importante en las propiedades físicas del estrato córneo y la exacta cuantificación de ésta en el estrato córneo y sus interacciones con la aplicación tópica de productos son esenciales para entender la fisiología de la piel y revelarían además, la eficacia de formulaciones para el cuidado de la piel, como también la irritación que éstas puedan producir. Uno de los ingredientes activos que se está utilizando en variadas formulaciones es el aceite de Emú. Este es un aceite de origen animal, el que se obtiene de un ave del mismo nombre, perteneciente al grupo de los ratites. El aceite se utilizaba ya por los aborígenes australianos como cicatrizante de heridas y para controlar el dolor.⁽⁸⁾

A pesar de que se han divulgado los efectos farmacológicos y cosméticos del aceite de Emú, tales como propiedades humectantes, no comedogénicas, antiartríticas, no irritante, antiinflamatorias y de una excelente permeabilidad, aún no se ha identificado ningún compuesto activo responsable de estas propiedades ^(8,12-14). La principal característica que se le ha atribuido al aceite de Emú, corresponde a su capacidad humectante ⁽¹⁵⁾. En un estudio anterior, realizado en el Laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Chile, se determinó que el aceite de Emú presentaba esta propiedad, siendo superior a una crema control.⁽¹⁶⁾

El aceite de Emú está compuesto por aproximadamente un 70% de ácidos grasos no saturados, el principal es el ácido oleico, que constituye alrededor del 40% del contenido total de ácidos grasos, también contiene los ácidos grasos esenciales, de ácido linoleico (20%) y de α -linolénico (1-2%),^(8,17). Posiblemente estos últimos serían los responsables de las propiedades humectantes, sin embargo, no se han realizado estudios científicos que respalden esta hipótesis. La razón para el uso de ciertos aceites en cosméticos se basa en la creencia o convicción de que los triglicéridos formados con los ácidos grasos esenciales serían similares a los triglicéridos que componen la piel humana ^(8,18,19).

Otro aceite ampliamente utilizado es el aceite de rosa mosqueta (*Rosa morchata L.*), que se extrae de la semilla de la planta con el mismo nombre. Actualmente se comercializa en Chile y el mundo como aceite puro o incluido en emulsiones cosméticas. Se le atribuyen propiedades regenerativas y humectantes de la piel ⁽²⁰⁾. Por su composición rica en ácidos grasos esenciales insaturados (44-49% de linoleico y 28-34 % de linolénico) ⁽²¹⁾ presentaría estos efectos. Cabe destacar que presenta una composición cualitativa de ácidos grasos insaturados muy similar al aceite de Emú, y por ende, a la piel humana; sin embargo cuantitativamente presenta diferencias en su composición frente a este aceite como se observa en la Tabla 1. Debido a su composición, el aceite de rosa mosqueta presentaría un efecto restaurador de la bicapa lipídica, al igual que el aceite de emú al incorporar ácidos grasos esenciales y, por consiguiente, tendría un efecto humectante; pero no existen estudios que lo avale.

Tabla 1: Composición de ácido grasos del aceite de Emú, aceite de rosa mosqueta y piel humana, (ref 18, 22, 23)

Ácido graso	Emú (EEUU)	Piel Humana	Rosa mosqueta (Chile)
Mirístico	0,4	2,1	---
Palmítico	22,0	20,2	4,5
Esteárico	9,6	11,2	1,6
Palmitoleico	3,5	3,8	---
Oleico	47,4	30,8	16,3
Linoleico	15,2	15,1	43,2
Linolénico	0,9	0,3	34,4

En la actualidad se están comercializando en el país productos cosméticos que contienen extracto de baba de caracol (*Helix aspersa Müller*), esta sustancia está compuesta por alantoína, vitaminas, colágeno, elastina, ácido glicólico ⁽²⁴⁾, mucopolisacáridos y agua ⁽²⁵⁾, debería presentar un efecto humectante; sin embargo no existen a la fecha trabajos científicos que hayan determinado esta propiedad. Al extracto de baba de caracol se le atribuyen propiedades regeneradoras y blanqueadoras de la piel, probablemente por la composición antes mencionada, y se comercializa en gran parte del mundo incluida en emulsión o/w o en gel.

La bícapa lipídica de la piel actúa como una barrera impermeable a la mayoría de las sustancias polares. Esto constituye un obstáculo para el intercambio a través de la membrana de iones involucrados en la mantención de la osmolaridad y, en particular, de los gradientes iónicos. Sin embargo, para el transporte de iones inorgánicos y de pequeñas partículas, la célula involucra proteínas de transmembrana, la cuales son específicas para un ión o molécula. Esto con el fin de la mantención de un equilibrio de concentración de electrolitos

(principalmente sodio y potasio) tanto a nivel intra y extracelular. Estas diferencias de concentraciones son mantenidas por una bomba Na/K, con lo cual se regula la presión osmótica, para así controlar el volumen celular. Para funcionar apropiadamente, esta bomba debe ser activada por la entrada de potasio extracelular hacia la célula. Si el influjo de potasio es bloqueado por alguna sustancia, esta bomba dejaría de funcionar y, por lo tanto, la célula ya no sería capaz de mantener su equilibrio osmótico ⁽²⁶⁾. Este ejemplo ilustra la importancia del ión potasio, particularmente en la mantención del balance osmótico de la célula.

Una manera de ayudar a la mantención de la humedad de la célula sería entregando un suministro externo de potasio para mantener o restaurar el gradiente osmótico. Basado en este principio se comercializa un extracto obtenido de los rizomas de una planta desértica denominada *Imperata cylíndrica Raeuschel*, que contiene almidón, azúcar y un alto contenido de potasio (alrededor de 0,75 % del peso seco de la planta)^(26,27). Este extracto presenta la ventaja de contener un compuesto osmoprotector, el DMSP (dimetilsulfopropionato). Este compuesto tendría como rol principal permitir a la planta enfrentar condiciones extremadamente áridas o salinas, además de permitir a la célula captar y mantener el agua. La base fisicoquímica no está bien comprendida para explicar el efecto osmoprotector. Los osmoprotectores tienen propiedades protectoras frente a condiciones de altas y bajas temperaturas.⁽²⁸⁾ Estos dos factores (alta concentración de ión potasio y presencia de un osmoprotector) actuarían sinérgicamente para mantener el grado apropiado de hidratación de la planta, sin importar las condiciones existentes. Por lo tanto se creería que este efecto sinérgico entre estos dos componentes incluidos en el extracto de *Imperata cylíndrica R.* podría entregar en un producto cosmético, además de un efecto humectante, la mantención de esta hidratación por un período de tiempo prolongado. ⁽²⁹⁾

En la actualidad, se encuentran comercialmente disponibles varios instrumentos para el estudio del estado de hidratación de la piel, basados en la determinación de la conductancia o de la capacitancia.^(30,31) De estos instrumentos, el Corneometer® CM 825 ha demostrado ser un equipo eficiente en la medición de la variación de contenido de agua en el estrato córneo, bajo diversas condiciones experimentales.

Las mediciones de conductancia eléctrica de la piel se realizan en voluntarios sanos, en condiciones ambientales de humedad y temperatura controladas. Se debe considerar que existen ciertas variables en las mediciones, una de ellas correspondería a las intraindividuales: entre ellas las diferencias de hidratación de la piel sitio a sitio en la misma región anatómica; los altos valores de hidratación se presentan en la frente y palmas de las manos, mientras que los valores más bajos se observan en abdomen, muslos y en la parte baja de las piernas; hay estudios que han demostrado que la hidratación de sitios pares contralaterales serían generalmente muy similares, excepto en la palma de las manos; la influencia del pelo del cuerpo se debe tener presente especialmente si la comparación se hace con sitios que siendo contralaterales presenten pelos en un sitio y en el otro no.⁽³²⁾

También se han observado variables relacionadas con el instrumento: el Corneometer® CM 825 es muy sensible en pieles relativamente secas. Variables relacionadas con el medio ambiente: como es el caso de la temperatura ambiental y la humedad relativa, los proveedores recomiendan para un uso óptimo del Corneometer® CM 825 una sala ambientada a 20°C y entre 40-60% de humedad relativa. Se ha visto que alteraciones en estas condiciones influyen directamente en el contenido de agua en el estrato córneo. Por último las variaciones que ocurren en distintas estaciones del año debido a las alteraciones en la temperatura ambiental y humedad relativa, incluso las variaciones en el mismo día son discutidas por algunos autores^(32 - 34).

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO

El aceite de Emú presenta una capacidad humectante superior a otros ingredientes activos. Asimismo, la mezcla del aceite de Emú con cada uno de estos ingredientes aumenta su efecto humectante.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Estudiar comparativamente la capacidad humectante del aceite de Emú incluido en una emulsión, con respecto a otras emulsiones que incluyen extracto de baba de caracol (*Helix aspersa Müller*), aceite de rosa mosqueta (*Rosa moschata L.*) y extracto de *Imperata Cylindrica R.* cada una incluida por separado en un vehículo bajo las mismas condiciones del preparado de aceite de Emú. Además de estudiar si existe efecto sinérgico en la capacidad humectante de mezclas de aceite de Emú con los otros activos.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Desarrollar emulsiones estables del tipo o/w incorporando al 5 % los agentes humectantes solos.

3.2.2. Desarrollar emulsiones de aceite de Emú en mezcla con otros agentes humectantes.

3.2.3. Evaluar en voluntarios sanos, ambos sexos, la capacidad humectante de las emulsiones desarrolladas, utilizando el Corneometer CM 825 en un estudio agudo.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 Materiales:

4.1.1. Materias grasas:

- Aceite Mineral, USP
- Aceite de Emu
- Alcohol Cetílico, USP
- Monoestearato de glicerilo neutro, USP
- Aceite de rosa mosqueta, (*Coesam*)

4.1.2. Emulgentes:

- Oleth-20 (Ameroxol OE-20, Amerchol)
- Oleth-2 (Ameroxol OE-2, Amerchol)

4.1.3. Agentes viscosantes:

- Carbomer ® 934 neutro (Noveon)
- Silicato de Al y Mg (5 %) (Veegum) (Hercules)
- Carboximetilcelulosa (5%) (Hercules)

4.1.4. Agentes de preservación:

- Metilparabeno. Nipagin Sutton
- Propilparabeno. Nipason Sutton

4.1.5. Agentes antioxidantes:

- Butilhidroxitolueno, (BHT, USP)

4.1.6. Activos cosmético hidrosolubles:

- Baba de caracol (*Helix aspersa müller*), (empresas Del Pozo)
- Extracto de *Imperata cilíndrica R.*, (Moist 24® , Croda)

4.2. Métodos:

4.2.1. Desarrollo de las emulsiones:

Las emulsiones se elaboraron mediante el método tradicional, en la Tabla 2 se muestra en forma porcentual las cantidades de las fases de la emulsión: se pesó la fase grasa y los emulgentes, en otro vaso precipitado se pesan los constituyentes de la fase acuosa: el metilparabeno, propilparabeno, BHT y el agua. Se llevaron ambas fases a baño maría hasta alcanzar un rango de 70° a 80° C. Se vertió la fase acuosa sobre la oleosa y se agitó a 464 rpm por 5 minutos y luego se disminuyó la velocidad de agitación a 250 rpm hasta alcanzar 25°C. Los activos cosméticos hidrosolubles se incorporaron a la emulsión a 25°C.

Tabla 2: Fórmula porcentual de las fases en las emulsiones a realizar.

Componentes emulsión	Cantidad (%)
Fase grasa	20
Emulgente	3
Fase acuosa con agentes preservantes	77

Se seleccionó una fórmula base o/w, que incluyó materias primas que no presentaran propiedades humectantes para la piel. En la Tabla 3 se muestra la fórmula cuantitativa de la emulsión base que incluye el activo cosmético en una concentración al 5%.

Tabla 3: Formulación base o/w empleada en el estudio.

Materias primas	Porcentaje
Aceite mineral	10,00
Activo cosmético	5,00
Alcohol cetílico	2,00
Monoestearato de glicerilo neutro	3,00
Sistema emulgente no iónico	3,00
Metilparabeno	0,20
Propilparabeno	0,10
Butilhidroxitolueno	0,05
Viscosante	1.00
Agua c.s.p.	100,00

4.2.2. Evaluación de las características de calidad de las emulsiones:

- **Evaluación de características organolépticas:** olor, color y aspecto.
- **Viscosidad:** Las viscosidades se midieron utilizando un viscosímetro Brookfield, modelo RVT. Para cada formulación se midió la viscosidad a las 24 horas a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$
- **pH:** Para la determinación del pH de cada emulsión, se midió directamente, utilizando un pHímetro Orion, previamente calibrado con dos soluciones patrón, pH 4 y pH 7 a 20°C .

4.2.3. Ensayos de evaluación de estabilidad:

- **Estabilidad en estantería:** las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente (25°C) por un período mínimo de tres meses.
- **Estabilidad acelerada:** las muestras se mantuvieron en estufa a 40°C por un período mínimo de tres meses

4.2.4. Evaluación de la capacidad humectante:

Se realizó mediante la medición de la capacitancia eléctrica de la piel, utilizando el Corneometer® CM 825 (figura 4.1) , este equipo posee un sensor de medición de 0,65 cm² y consiste de un cabezal que contiene dos electrodos recubiertos de oro, sobre estos se encuentra una rejilla cubierta de un material vitrificado de baja constante dieléctrica. Cada electrodo tiene un ancho de 75 μm y están separados por una distancia similar. No existe contacto galvánico entre el electrodo y la piel. El sistema completo, electrodos y estrato córneo, trabajan como un capacitor variable. Cuando el estrato córneo está hidratado se observa un cambio significativo en la medida de la capacitancia total. Las lecturas de hidratación son dadas por el equipo en unidades arbitrarias. El principio de medición del Corneometer CM 825® se considera propiedad de la empresa Courage-Khazaka. La calibración del equipo se realiza de acuerdo a la información entregada por los fabricantes. ⁽³³⁾

Figura 4.1: Fotografía del Corneometer CM 825® (Courage and Khazaka)



4.2.5. Estabilización de las emulsiones

Para mejorar la estabilidad de las emulsiones se incorporaron agentes viscosantes en una concentración de 6% respecto a la formulación total. Se utilizaron carboximetilcelulosa sola y en mezcla con Carbomer 934 en igual proporción; silicato de Al y Mg en mezcla con carboximetilcelulosa en igual proporción y Carbomer 934 solo. Se sometieron a los ensayos de estabilidad en estantería (25°C) y acelerada (40°C) obteniéndose los resultados demostrados en la Tabla 7.

Cabe señalar que se incluyeron los controles fisicoquímicos solamente para las emulsiones que resultaron estables.

4.2.5.1. Protocolo de investigación estudio agudo:

Se reclutaron 19 voluntarios sanos, de ambos sexos, cuyas edades fluctuaron entre 21 y 27 años, los voluntarios fueron informados de las condiciones y restricciones de la experiencia práctica antes de dar inicio al estudio. La aceptación de participación fue certificada con un “Consentimiento informado” (Anexo 1).

La experiencia ocurrió en una jornada y, considerando que la hidratación del estrato córneo no es dependiente en el tiempo de los ritmos circadianos ⁽³⁵⁾, se realizó en la mañana o en la tarde. Se estudiaron 2 voluntarios simultáneamente. El estudio comenzó manteniendo a los voluntarios durante 30 minutos en un período de equilibrio (reposo), sin efectuar movimientos innecesarios en una habitación de temperatura y humedad controladas ($T^{\circ} 25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ y H.R $50 \pm 5\%$).

Las áreas de aplicación de los productos se marcaron con un lápiz marcador quirúrgico lavable, delimitando exactamente el área de aplicación del producto ($2.5 \times 2.5 \text{ cm}^2$), en la zona interna del antebrazo. Se obtuvieron 9 sitios de medición en los cuales están incluidos los preparados de aceite de Emú y los demás agentes hidratantes, además de un sitio control. Los voluntarios debían

evitar el uso de humectantes u otros productos cosméticos y farmacéuticos en los sitios de ensayo dos días previos al estudio.

Finalizado el período de equilibrio se procedió a la determinación del valor inicial de la conductancia (basal) utilizando el Corneometer CM 825[®]. Se midió por triplicado en cada sitio marcado. Inmediatamente se les aplicó (0,03 mL/cm²) en las zonas delimitadas, exceptuando la zona control. Se repitió esta medición a los 30, 60, 90 y 120 minutos de aplicación de los productos. El estudio se realizó en ambos brazos.

4.2.6. Análisis estadístico de valores de capacitancia eléctrica.

El análisis estadístico se realizó mediante Test de Bonferroni utilizando el programa Statgraphics Plus v. 5.0 con la asesoría del señor Luis Rodriguez (Master en Bioestadística).

5. RESULTADOS

Se elaboraron 8 emulsiones utilizando la fórmula base. No se realizaron modificaciones en el proceso de elaboración.

Tabla 4: Tabla de formulaciones a emplear en estudio de humectación *in vivo*. Se emplea en las mezclas de activos cosméticos un total del 5% en materia activa para no provocar un aumento respecto al porcentaje de los otros preparados.

Formulaciones %								
Materias Primas	Vehículo	Rosa Mosqueta	Extr. Imperata	Baba caracol	Emú	Emu/R. mosq.	Emú/Extr. Imperata	Emú/Extr. caracol
Aceite Mineral	15	10	10	10	10	10	10	10
Monoestearato de Glicerilo	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Alcohol Cetílico	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Aceite de rosa mosqueta	---	5,0	---	---	---	2,5	---	---
Extr. <i>Imperata cylindrica R.</i>	---	---	5,0	---	---	---	2,5	---
Baba de caracol	---	---	---	5,0	---	---	---	2,5
Aceite de Emú	---	---	---	---	5,0	2,5	2,5	2,5
Oleth 20	1,9	1,8	2,0	2,0	1,8	1,8	1,9	1,9
Oleth 2	1,1	1,2	1,0	1,0	1,2	1,2	1,1	1,1
Metilparabeno	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Propilparabeno	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Carbomer 934 (1%)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Agua	75	75	75	75	75	75	75	75

5.1. Estudio de Estabilidad de las emulsiones

Se les realizó un estudio de estabilidad a las 8 formulaciones preparadas.

5.1.1. Estudio de estabilidad en estantería:

Los resultados de estos ensayos se observan en la tabla 5 donde se observa que todas las formulaciones se mantuvieron estables a temperatura ambiente (25°C) durante tres meses.

Tabla 5: Estudio de estabilidad de las emulsiones, sometidas a estudio de estabilidad en estantería a 25°C, estudio de estabilidad acelerada en estufa a 40°C.

E = estable e I = inestable.

Estudio		Vehiculo	Rosa Mosqueta	Extr. Imperata	Baba caracol	Emú	Emu/R. Mosq.	Emú/Extr. Imperata	Emú/B. caracol
Estabilidad en estantería, 25°C	1 día	E	E	E	E	E	E	E	E
	1 semana	E	E	E	E	E	E	E	E
	1 mes	E	E	E	E	E	E	E	E
	2 meses	E	E	E	E	E	E	E	E
	3 meses	E	E	E	E	E	E	E	E
Estabilidad acelerada, 40°C	1 día	E	E	E	E	E	E	E	E
	1 semana	E	I	E	I	E	I	E	I
	1 mes	E	I	E	I	E	I	E	I
	2 meses	E	I	E	I	E	I	E	I
	3 meses	E	I	E	I	E	I	E	I

5.1.2. Estudio de estabilidad acelerada:

Los resultados obtenidos se observan en la Tabla 5, donde se puede apreciar que las formulaciones de rosa mosqueta, extracto de baba de caracol, aceite de Emú/ rosa mosqueta y aceite de Emú/ extracto de baba de caracol presentaron signos de inestabilidad a 1 semana de elaboradas, mientras que el resto de las formulaciones se mantuvieron estables a 40° C durante 3 meses.

5.2. Controles de calidad.

Los controles de calidad fueron realizados a todas las formulaciones. En la Tabla 6 se presentan los datos obtenidos tanto para las formulaciones estables como las inestables.

5.2.1. Controles fisicoquímicos:

Los resultados de estos controles se observan en la Tabla 6, en donde todas las formulaciones preparadas mantenidas a temperatura ambiente ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$), conservaron sus características organolépticas después de tres meses de su elaboración. Se ve que según el activo cosmético utilizado la viscosidad de la emulsión varía respecto al vehículo, manteniéndose entre los 1200 cps para el aceite de rosa mosqueta y 3300 cps para la mezcla de aceite de Emú/ rosa mosqueta. Respecto al pH se observa que fluctúa entre 5,17 y 5,98 para todas la formulaciones, siendo el más bajo para el preparado que incluye extracto de baba de caracol y el más alto para la formulación que incluye extracto de *Impertata cylíndrica R.*

Tabla 6: Controles fisicoquímicos de las formulaciones realizadas. Características organolépticas, pH y viscosidad medidos a las 24 hrs después de su elaboración.

Controles								
Características organolépticas	Vehículo	Rosa mosqueta	Extr. Imperata	Baba caracol	Emú	Emu/R. mosq.	Emú/Extr. Imperata	Emú/Extr. caracol
Olor	Inodoro	Caract. a aceite de rosa Mosqueta	Inodoro	Inodoro	Caract. a aceite de Emú	Característico aceite rosa mosqueta	Caract. a aceite de emú	Caract. a aceite de Emú
Color	Blanco	Naranja pálido	Blanco	Blanco	Blanco	Naranja pálido	Blanco	Blanco
Aspecto	Cre moso	Cre moso	Cre moso	Cre moso	Cre moso	Cre moso	Cre moso	Cre moso
Viscosidad 24 hrs.	5000 cps	1200 cps	2900 cps	1600 cps	2300 cps	3300 cps	3200 cps	2600 cps
pH	5,47	5,68	5,98	5,17	5,63	5,67	5,93	5,17

Se puede observar en la Tabla 6 que tanto el aceite de rosa mosqueta como el extracto de baba de caracol disminuyeron considerablemente la viscosidad al ser incorporadas respecto al vehículo, pero al incorporar aceite de Emú a estos activos cosméticos se aumentó la viscosidad de los preparados que contenían estas mezclas.

5.3. Estabilización de emulsiones

Para mejorar la estabilidad de las emulsiones se aumentó el porcentaje de agente viscosante a un 6 % debido a que se presentó cremado. En la Tabla 7 se observan los resultados del estudio de estabilidad para las emulsiones que resultaron inestables a 40° C y que fueron modificadas incorporando agentes viscosantes en distintas proporciones y sometidas a estudios de estabilidad en estantería y acelerada.

Tabla 7: Estudio de estabilidad de las emulsiones incorporando agentes viscosantes en distintas proporciones, sometidas a estudio de estabilidad en estantería a 25°C, estudio de estabilidad acelerada en estufa a 40°C. F1: Carbomer 934 ; F2: silicato de Al y Mg/ CMC ; F3: CMC ; F4: Carbomer 934/ CMC . E = estable e I = inestable.

		R. mosqueta				Extr. Baba caracol				Emú/ rosa mosqueta				Emú/ baba caracol			
Estudio		F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4
Estabilidad en estantería, 25°C	1 día	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	1 semana	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	1 mes	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	2 meses	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	3 meses	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
Estabilidad acelerada, 40°C	1 día	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	1 semana	E	I	I	E	E	I	I	E	E	I	I	E	E	I	I	E
	1 mes	E	I	I	I	E	I	I	I	E	I	I	I	E	I	I	I
	2 meses	E	I	I	I	E	I	I	I	E	I	I	I	E	I	I	I
	3 meses	E	I	I	I	E	I	I	I	E	I	I	I	E	I	I	I

5.3.1. Estudio de estabilidad en estantería:

Los resultados de estos ensayos se observan en la Tabla 7 donde se observa que todas las formulaciones se mantuvieron estables a temperatura ambiente (25°C) durante tres meses.

5.3.2. Estudio de estabilidad acelerada:

Los resultados obtenidos se observan en la Tabla 7, donde se puede apreciar que las formulaciones que incluían el agente viscosante Carbomer 934 (F1) se mantenían estables durante 3 meses para todos los preparados, excepto para la mezcla Carbomer 934/ CMC, la cual presentó signos de inestabilidad a 1 mes

de elaborada. El resto de las formulaciones presentaron signos de inestabilidad a 1 semana de elaboradas a 40° C.

5.3.3. Controles fisicoquímicos: Los resultados de estos controles se observan en la Tabla 8, en donde todas las formulaciones incorporadas con Carbomer 934 mantenidas a temperatura ambiente (23±2°C), conservaron sus características organolépticas después de tres meses de su elaboración.

Tabla 8: Controles fisicoquímicos de las formulaciones realizadas. Características organolépticas, pH y viscosidad medidos a las 24 hrs después de su elaboración.

F1: Carbomer 934

Controles	R. mosqueta	Extr. baba caracol	Emú/ R. mosq.	Emú/ caracol
Características organolépticas	F1	F1	F1	F1
Olor	Característico a aceite de rosa mosqueta	inodoro	Característico a aceite de rosa mosqueta	Característico a aceite de Emú
Color	Naranja pálido	Blanco	Naranja pálido	Blanco
Aspecto	Cre moso	Cre moso	Cre moso	Cre moso
Viscosidad 24 hrs.	6100 cps	2700 cps	5400 cps	3100 cps
pH	6,20	5,49	6,06	5,95

En la Tabla 8 se observa que la viscosidad aumentó considerablemente respecto a la formulación original, aumentando levemente también el valor de pH para todos los preparados.

5.4. Evaluación de la capacidad humectante *in vivo*:

En la figura 5.41 se muestra el gráfico con los valores de capacitancia promedio en función del tiempo obtenidos con el control y cada uno de los productos aplicados: Vehículo y emulsiones que incluyen extracto de baba de caracol (*Helix aspersa Müller*), aceite de rosa mosqueta (*Rosa moschata L.*), extracto de *Imperata cylíndrica R.* y aceite de Emú; además de mezclas de este último con cada uno de los otros activos cosméticos por separado. Se observa que los valores de capacitancia promedio a tiempo cero (sin tratamiento) para los 19 voluntarios oscilaron alrededor de 29 u.a.

Se obtuvo el promedio y la desviación estándar de los valores de capacitancia para todos los productos a todos los tiempos estudiados, los que se observan en detalle en el Anexo 2. Luego, se les aplicó un test de normalidad obteniéndose que presentaban una distribución normal.

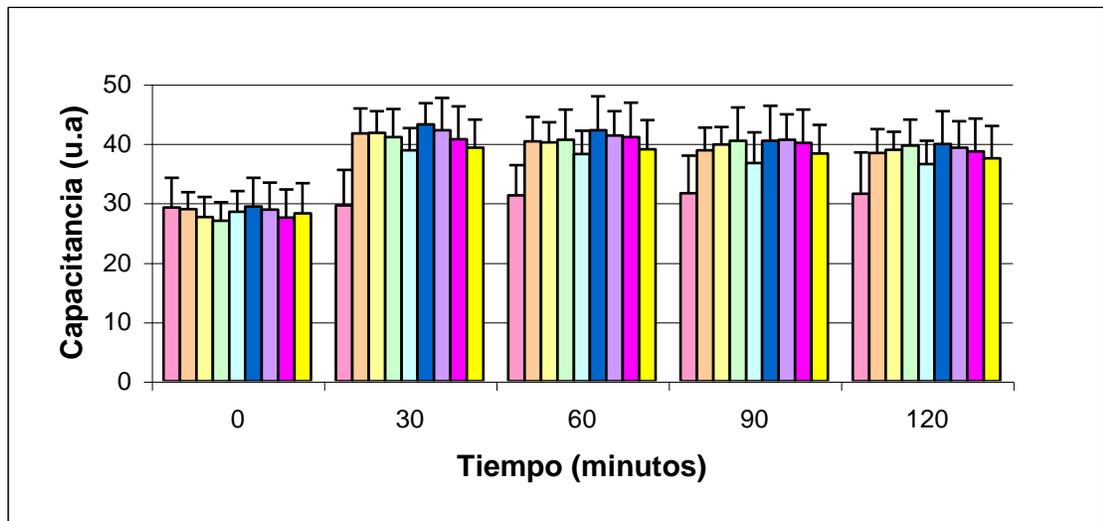


Figura 5.41: Grafico de barras de la variación de la conductancia eléctrica en los tiempos 0, 30, 60, 90 y 120 minutos para Vehículo ■ , Emulsión con aceite de rosa mosqueta ■ , Emulsión con extracto de *Imperata cilíndrica R.* ■ , Emulsión con extracto de baba de caracol ■ , Emulsión con aceite de Emú ■ , Emulsión con aceite de Emú/ rosa mosqueta ■ , Emulsión con aceite de Emú/ *Imperata cilíndrica R.* ■ , Emulsión con aceite de Emú/ extracto de baba de caracol ■ , respecto del sitio control ■ , valores promedios de los 19 voluntarios.

El análisis estadístico demostró que a tiempo cero los valores no presentaban diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p < 0,05$). Los valores de capacitancia promedio de los controles para los 19 voluntarios oscilaron alrededor de 30 u.a.

Después de treinta minutos de aplicados los productos, se observa en la figura 5.41 que los valores de capacitancia promedio de la humedad basal se mantuvieron alrededor de 30 u.a. para los 19 voluntarios, indicando que la humedad se mantuvo constante en este sitio. La emulsión con aceite de Emú presentó a este tiempo su valor promedio absoluto más alto de las dos horas de estudio. El valor de capacitancia obtenido para el preparado de aceite de Emú se podría deber a la incorporación de los ácidos grasos esenciales de este activo cosmético en la bicapa lipídica dentro del estrato córneo, al igual de lo ocurrido con el aceite de rosa mosqueta. Además, como se observa en la figura 5.41 todas las formulaciones presentaron diferencias estadísticamente significativas de los valores de capacitancia con respecto al sitio control, siendo los valores promedio de capacitancia de los preparados superiores respecto a este sitio, indicando un incremento de humedad de la piel. El valor promedio más bajo de capacitancia fue para la emulsión que contenía extracto de baba de caracol, el cual presentó diferencias estadísticamente significativas frente a la emulsión que contenía aceite de Emú. Esto da indicio que el extracto de baba de caracol al porcentaje empleado (5%) presenta un efecto humectante bajo respecto a este aceite. Sin embargo, hay que considerar la concentración de extracto de baba de caracol es mucho más baja respecto a la empleada en el mercado (alrededor del 50%), y no existen concentraciones recomendadas ni limitadas para este activo⁽⁴⁾. Probablemente si se aumentara el porcentaje de este activo el valor de capacitancia sería mucho mayor. Otra emulsión que también presentó diferencias estadísticamente significativas frente al preparado de aceite de Emú fue la mezcla extracto de baba de caracol/ aceite de Emú, siendo el valor promedio de capacitancia más bajo para esta última respecto a

la emulsión que contenía este aceite. Las otras emulsiones no presentaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de capacitancia respecto al preparado de aceite de Emú a este tiempo.

A los sesenta minutos se observa en la figura 5.41 que el valor de capacitancia promedio para el sitio control se mantuvo alrededor de 30 u.a. similar al tiempo anterior. El valor absoluto promedio más alto de capacitancia obtenido sigue correspondiendo al preparado que contenía aceite de Emú, sin embargo no presentó diferencias estadísticamente significativas respecto a las demás emulsiones, excepto frente al preparado de extracto de baba de caracol, al igual que en el tiempo anterior. Se puede observar además que los promedios de valores de capacitancia para el vehículo y las emulsiones de aceite rosa mosqueta, extracto de baba de caracol, aceite de Emú, y las mezclas de aceite de Emú/ aceite rosa mosqueta disminuyeron respecto a los treinta minutos. Esto puede justificar que a este tiempo la emulsión de aceite de Emú ya no presentó diferencias estadísticamente significativas de su valor promedio de capacitancia frente a la emulsión que contenía la mezcla aceite de Emú/ extracto de baba de caracol como se observó en el tiempo anterior, ya que esta última mantuvo constante su valor de capacitancia respecto a los treinta minutos, al igual que las emulsiones que contenían extracto de *Imperata cylíndrica R.* y la mezcla de aceite de Emú/ extracto de *Imperata cylíndrica R.*

A los noventa minutos se observa en la figura 5.41 que el promedio de los valores de capacitancia para el sitio control continuaron alrededor de 30 u. a. para los 19 voluntarios, indicando que la humedad se mantuvo constante para ese sitio. El valor promedio más bajo de capacitancia obtenido sigue correspondiendo a la emulsión que contenía extracto de baba de caracol. A este tiempo, la emulsion de extracto de baba de caracol tuvo diferencias estadísticamente significativas en su valor promedio de capacitancia frente al preparado de aceite de Emú al igual que a los sesenta minutos, pero además presentó diferencias estadísticamente significativas respecto a las emulsiones

que contenían extracto de *Imperata cylíndrica R.* y la mezcla de aceite de Emú/ aceite de rosa mosqueta. También se observa en la figura 5.41 que tanto el vehículo como las emulsiones de extracto de baba de caracol, aceite de Emú y los preparados de mezclas de aceite de Emú/ aceite de rosa mosqueta, aceite de Emú/ extracto de *Imperata cylíndrica R.* y aceite de Emú/ extracto de baba de caracol disminuyeron su valor promedio de capacitancia respecto al tiempo anterior. Además se observa en la figura 5.41 que los valores de capacitancia promedio para las emulsiones que contenían extracto de *Imperata cylíndrica R.* y aceite de rosa mosqueta se mantuvieron constante respecto a los sesenta minutos. Cabe señalar que el valor absoluto promedio de capacitancia de la emulsión de aceite de Emú fue muy similar frente a los preparados de aceite de rosa mosqueta, extracto de *Imperata cylíndrica R.* , las mezclas de aceite de Emú/ aceite de rosa mosqueta y aceite de Emú/ extracto de *Imperata cylíndrica R.*

A los ciento veinte minutos se observa que el promedio de los valores de capacitancia para el sitio control se mantuvo constante para los 19 voluntarios. Esto indica que las condiciones ambientales del estudio no variaron significativamente durante las dos horas, además que todos los productos presentaron un efecto humectante; esto debido a que se aumentó significativamente la capacitancia eléctrica (aproximadamente 25%) respecto a los valores basales de humedad (alrededor de 30 u.a.) de los sitios estudiados. El promedio más bajo de capacitancia sigue manteniéndolo la emulsión que contenía extracto de baba de caracol, manteniendo su valor constante respecto al tiempo anterior, sin embargo a este tiempo no presentó diferencias estadísticamente significativas en su valor promedio de capacitancia respecto a ningún preparado. Además, en relación al vehículo se observa en la figura 5.41 que su promedio obtenido de valores de capacitancia también se mantuvo constante respecto al tiempo anterior al igual que el preparado de extracto de baba de caracol. Para la emulsión que contenía aceite de rosa mosqueta se

observa que los valores promedio de capacitancia disminuyeron también respecto al tiempo anterior junto con los valores de capacitancia de los preparados que contenían extracto de *Imperata cylíndrica R.* y aceite de Emú, además de las mezclas de aceite de Emú/ aceite de rosa mosqueta, aceite de Emú/ extracto de *Imperata cylíndrica R.* y aceite de Emú/ extracto de baba de caracol.

6. DISCUSIÓN

Para la realización de este estudio se utilizó como vehículo para incluir los distintos activos cosméticos una emulsión desarrollada en un trabajo anterior, en el cual se concluyó que el valor promedio de capacitancia eléctrica obtenido con una emulsión con una concentración de 5% de aceite de emú no varió significativamente respecto a una concentración mayor de este aceite.⁽¹⁶⁾ Por lo tanto para comparar el efecto humectante se seleccionó el mismo vehículo y la misma concentración de activos cosméticos (5%), incluyendo las mezclas que contenían aceite de Emú y otro activo.

Respecto a los resultados de estabilidad de las emulsiones, se puede observar que no todas se mantuvieron estables dentro de los tres meses de estudio a 40° C, sin embargo sí lo fueron a temperatura ambiente. El problema que se presentó fue cremado, el cual se relaciona con la viscosidad de la emulsión, ya que se observó en los resultados de la Tabla 6 que los valores más bajos de este parámetro fueron para las emulsiones que contenían aceite de rosa rosqueta y extracto de baba de caracol, las cuales fueron inestables a 40°C a una semana de sometidas a esta condición. Respecto a las mezclas de aceite de Emú/ aceite de rosa mosqueta y aceite de Emú/ extracto de baba de caracol, las cuales también presentaron signos de inestabilidad a una semana de ser sometidas a 40°C, se destaca que su viscosidad era similar o mayor que las emulsiones que resultaron estables bajo esta misma condición, pero al aumentarse el agente viscosante a un 6%, además de aumentar su viscosidad, estas emulsiones resultaron estables a 40°C. Con esto se puede deducir que necesitaban de una viscosidad mucho mayor que el resto para mantenerse estables bajo esta condición. Dentro de los resultados del estudio de estabilidad para las emulsiones que fueron reformuladas con una serie de agentes viscosantes se puede señalar que para estas sustancias empleadas al 6% (silicato de Al y Mg/CMC, CMC y Carbomer 934/ CMC) el valor de viscosidad

fue mucho más bajo respecto a las emulsiones que contenían Carbomer 934 (1%). Esto se podría deber a que la estructura del Carbomer 934 es más rígida, lo cual mantendría los glóbulos en red, disminuyendo significativamente la velocidad de cremado según la Ley de Stokes.

Los resultados de este estudio demostraron que la emulsión que contenía aceite de Emú obtuvo su máximo valor de capacitancia eléctrica a los treinta minutos, sin embargo disminuyó significativamente este valor a partir de este tiempo hasta los ciento veinte minutos. Esto puede indicar que a la concentración empleada (5%) el aceite de Emú dentro de una emulsión incluye sus ácidos grasos esenciales de manera rápida a nivel del estrato córneo en la piel siendo favorecida esta absorción por la acción del vehículo en el cual fue incluido, pero esta humectación se ve disminuída en el transcurso del tiempo de estudio.

La emulsión con extracto de baba de caracol obtuvo un valor promedio de capacitancia eléctrica menor respecto a todas las emulsiones, en especial frente al vehículo. Sin embargo cabe señalar que sí hubo un efecto humectante de este activo cosmético, ya que presentó diferencias estadísticamente significativas frente al sitio control durante las dos horas de estudio. Posiblemente esta capacidad humectante se vió favorecida por la acción del vehículo en el cual fue incluida el extracto de baba de caracol. Una posibilidad para este comportamiento sería que el vehículo presentaría un efecto oclusivo mayor al preparado de extracto de baba de caracol, ya que la única diferencia entre los preparados que contenían activos cosméticos respecto al vehículo era que éste tenía un 15% de aceite mineral y los demás preparados sólo tenían un 10% de esta materia prima, y el 5% restante se componía de algún activo cosmético que se quería estudiar. De todas maneras, si frente al parámetro anteriormente descrito comparamos el efecto humectante obtenido con el extracto de baba de caracol respecto al extracto de *Imperata cylíndrica R.*, (ambos compuestos hidrosolubles) se puede deducir que al presentar ambos

activos cosméticos distintos componentes posiblemente éstos influyan en el valor de capacitancia eléctrica observado durante las dos horas de estudio. En relación a esto, el preparado de extracto de baba de caracol presentó diferencias estadísticamente significativas frente al preparado que contenía aceite de Emú desde los treinta hasta los noventa minutos, presentando además a este tiempo (noventa minutos) diferencias significativas frente a las emulsiones de extracto de *Imperata cylíndrica R.* y la mezcla aceite de Emú/ aceite de rosa mosqueta. La principal característica clínica que se le atribuye al extracto de baba de caracol es la regeneración de tejidos, elasticidad y blanqueamiento de la piel; sin embargo no se pueden correlacionar estos efectos respecto a la capacitancia eléctrica de la piel. Frente a esto se podría en un posterior estudio profundizar en este tema. El extracto de baba de caracol contiene sustancias como el ácido glicólico, conocido por su capacidad exfoliante, la cual produciría una pérdida de agua en el estrato córneo con la consiguiente sequedad de la piel. También se podría especular que la baja humectación presentada por la emulsión de extracto de baba de caracol se debió a una pobre absorción de los mucopolisacáridos a nivel del estrato córneo debido a su elevado peso molecular. Por otro lado, si bien el preparado de extracto de baba de caracol presentó una capacidad humectante significativamente inferior respecto a la emulsión de aceite de Emú hasta los noventa minutos de estudio, su capacitancia eléctrica no disminuyó significativamente desde los treinta hasta los ciento veinte minutos, indicando que el preparado de extracto de baba de caracol mantuvo su propiedad humectante constante durante todo el estudio. En relación a lo anteriormente mencionado, se podría especular que el efecto mantenido de la humectación presentada por el extracto de baba de caracol podrá ser sólo un efecto de captación de agua del ambiente. Además, al incorporar extracto de baba de caracol junto al aceite de Emú en una emulsión como se observó en la figura 5.41, la capacidad humectante de esta mezcla se mantuvo constante durante

todo el estudio al no disminuir significativamente su valor de capacitancia eléctrica desde los treinta hasta los ciento veinte minutos, esto da indicio que a las concentraciones empleadas, el extracto de baba de caracol ayudaría a la mantención de la humectación proporcionada por el aceite de Emú durante las dos horas de estudio al incluirlos juntos en la misma emulsión. La asociación de ambos activos (aceite de Emú/ extracto de baba de caracol) no demostró tener una capacidad humectante superior respecto al preparado de aceite de Emú pero sí respecto al preparado de extracto de baba de caracol (el cual se vería favorecido en su capacidad humectante) y, además a los treinta minutos hubo diferencias estadísticamente significativas en el valor promedio de capacitancia entre la emulsión de aceite de Emú y el preparado que contenía mezcla de aceite de Emú/ extracto de baba de caracol. Otra posibilidad para explicar la diferencia de humectación de la emulsión de extracto de baba de caracol respecto al preparado de aceite de Emú entre los tiempos treinta a noventa minutos es que el preparado de aceite de Emú presentó mayor capacidad humectante que todas las emulsiones a partir de los treinta minutos (presentando un valor absoluto de capacitancia eléctrica superior a todas) hasta los sesenta minutos. Luego, este aceite, a los noventa minutos, presentó una capacidad humectante similar a los preparados que incluyeron extracto de *Imperata cylíndrica R.* y la mezcla de aceite de Emú/ aceite de rosa mosqueta. Es por esto que estos dos últimos presentaron también a los noventa minutos diferencias significativas respecto a la emulsión de extracto de baba de caracol. Respecto al preparado de extracto de *Imperata cylíndrica R.* se observó en la figura que sus valores absolutos de capacitancia eléctrica no variaron significativamente desde los treinta hasta los ciento veinte minutos. Además, en vista de los resultados obtenidos en este estudio se puede deducir que, si bien el extracto de *Imperata cylíndrica R.* se incorporó en el vehículo bajo las mismas condiciones del extracto de baba de caracol y además es un activo cosmético hidrosoluble, presentó una mejor capacidad humectante que el

extracto de baba de caracol; posiblemente debido a su composición que se basa en ión potasio, y de DMSP (dimetilsulfopropionato) los cuales son captados por los corneocitos, produciendo una mejor retención de agua por parte de estas células y además manteniendo este efecto durante un período prolongado de tiempo gracias al efecto osmoprotector del DMSP. Se puede deducir de los resultados obtenidos que la emulsión de extracto de *Imperata cylíndrica R.* presentó uno de los mejores efectos humectantes respecto al preparado de aceite de Emú, ya que su efecto humectante fue muy similar a este preparado al no presentar diferencias estadísticamente significativas durante las dos horas de estudio, sin embargo se destacó que a partir de los treinta minutos este extracto mantuvo su valor de capacitancia eléctrica constante durante todo el estudio, lo cual concordaría con la referencia entregada por el proveedor ⁽²⁹⁾; a diferencia del preparado de aceite de Emú, el cual disminuyó significativamente este valor a través del tiempo. Además, la asociación aceite de Emú/ extracto de *Imperata cylíndrica R.* al no presentar diferencias estadísticamente significativas frente al preparado de aceite de Emú, ni tampoco frente al preparado de extracto de *Imperata cylíndrica R.* presentaría la ventaja de obtener el mismo efecto humectante con concentraciones menores de estos activos al ser asociados. Además, esta asociación sería mejor porque los diferentes mecanismos de acción de los dos activos cosméticos harían que la piel mejorara su humectación, debido a que uno repararía la barrera lipídica (aceite de Emú) y el otro reestablecería el equilibrio osmótico en los corneocitos (extracto de *Imperata cylíndrica R.*). Esta asociación mantuvo su efecto humectante de manera constante durante las dos horas de estudio a la concentración utilizada, lo cual también podría dar indicio de un efecto coadyuvante en la mantención de la humectación del aceite de Emú por parte del extracto de *Imperata cylíndrica R.*, al igual como ocurrió con el extracto de baba de caracol.

Dentro de los resultados se puede destacar que el efecto humectante que presentó el vehículo fue decreciendo significativamente desde los treinta hasta los ciento veinte minutos, al igual que el preparado de aceite de Emú. También se puede señalar que no hubo diferencias estadísticamente significativas en los valores de capacitancia entre el vehículo y las demás emulsiones, en especial frente a la emulsión de aceite de Emú, esto se podría deber a un efecto oclusivo presentado por el vehículo, el cual fue disminuyendo a través del tiempo. Esto da indicio a que las concentraciones de activos utilizados (5%) y al tiempo estudiado (ciento veinte minutos) la capacidad humectante del vehículo sería similar al aceite de Emú (incluyendo su comportamiento a través del tiempo), sin embargo el mecanismo sería distinto a este aceite, ya que el vehículo actuaría por impedimento de la salida de agua de la piel, en cambio el aceite de Emú modificaría la bicapa lipídica restituyéndola.

Respecto a los resultados obtenidos con la emulsión que contenía aceite de rosa mosqueta se puede observar que su efecto humectante disminuyó significativamente entre los treinta minutos y ciento veinte minutos, alcanzando su máximo valor absoluto a este tiempo (treinta minutos). Dada la composición de ácidos grasos insaturados del aceite de rosa mosqueta se puede señalar que no presentó diferencias estadísticamente significativas respecto al preparado de aceite de Emú en los valores de capacitancia eléctrica. Sin embargo, se observa también como resultado de este estudio que el efecto humectante de la emulsión que contenía aceite de rosa mosqueta disminuyó significativamente entre los treinta y ciento veinte minutos, al igual que la emulsión de aceite de Emú. Aunque ambos se componen principalmente por este tipo de ácidos grasos, el aceite de rosa mosqueta está compuesto por alrededor del 40% de ácido linoleico, 34 % de linolénico y 16% de ácido oleico⁽²³⁾ ; mientras que el aceite de Emú está compuesto alrededor de 40% de Oleico, 20% de linoleico y 2% de linolénico^(8, 17). El ácido oleico actuaría como

agente de permeabilización hacia el estrato córneo, incluso se ha visto que este ácido graso no lo atraviesa, acumulándose para restaurar la barrera lipídica, obteniendo así un efecto humectante. ⁽³⁶⁾ Se estima que los otros ácidos grasos insaturados presentes en estos aceites tendrían un efecto humectante también por restauración de la barrera hidrolipídica del estrato córneo, aunque aún no hay estudios que avalen esto. Sin embargo, frente a la diferencia cuantitativa de ácidos grasos insaturados que presentan estos aceites y los resultados observados se podría decir que, aunque el aceite de Emú presenta un bajo porcentaje de ácido linoleico y linolénico, tiene un gran porcentaje de ácido oleico el cual compensaría el efecto humectante de los otros ácidos grasos; y viceversa respecto al aceite de rosa mosqueta, el cual contiene un mayor porcentaje de ácido linoleico y linolénico, pero un bajo porcentaje de ácido oleico. La asociación de ambos aceites no demostró tener una capacidad humectante superior tanto frente al aceite de Emú, ni al aceite de rosa mosqueta, este resultado concuerda con lo anterior, debido a que ambos activos presentan el mismo efecto humectante. Sin embargo, el efecto humectante proporcionado por esta asociación no varió significativamente entre los treinta y ciento veinte minutos, lo cual podría dar indicio que al asociar ambos aceites (Emú y rosa mosqueta) en una emulsión a las concentraciones estudiadas se favorecería la mantención del efecto humectante a través del tiempo a en forma aguda.

Se destaca también que todos los productos fueron humectantes, ya que los valores promedio de capacitancia en todos los tiempos estudiados fueron estadísticamente superiores al sitio control. Además, en las concentraciones estudiadas no se observó que la asociación de dos sustancias potencialmente humectantes provocara un aumento o sinergia de la capacidad humectante. Los resultados de este estudio mostraron que la incorporación de aceite de rosa mosqueta, extracto de *Imperata cylíndrica R.* y extracto de baba de caracol junto con el aceite de Emú no produjeron un aumento en los valores de

capacitancia eléctrica respecto al preparado de aceite de Emú solo, pero se puede destacar que estos valores son muy similares a los obtenidos con los preparados que incluían los agentes humectantes por separado (exceptuando el extracto de baba de caracol) lo cual podría disminuir la concentración de estas materias activas al incorporarlas juntas en un preparado cosmético, además con esta asociación se podría favorecer la mantención del efecto humectante de este preparado en el tiempo de manera constante.

Cabe señalar que este estudio se realizó en pieles normales, sería interesante en un futuro trabajo realizarlo en pieles secas; para así evaluar si el comportamiento de estos activos se mantiene.

7. CONCLUSIONES

1. Todas las emulsiones desarrolladas resultaron ser estables a temperatura ambiente y durante todo el estudio experimental, sin embargo al ser sometidas a un estudio de estabilidad acelerada (40°C) las emulsiones que contenían aceite de rosa mosqueta, extracto de baba de caracol y las mezclas de aceite de Emú/ aceite de rosa mosqueta y aceite de Emú/ extracto de baba de caracol presentaron el efecto de cremado, el cual fue solucionado al aumentar la cantidad de Carbomer 934 (1% dispersión) a un 6%.
2. Todos los productos estudiados, incluso el vehículo fueron humectantes, ya que los valores promedio de capacitancia en todos los tiempos estudiados fueron estadísticamente superiores al sitio control.
3. El estudio agudo de la capacidad humectante en 19 voluntarios sanos de pieles normales, utilizando el Corneometer CM 825, demostró que al incorporar aceite de Emú al 5% en una emulsión que no tuviera materias primas con capacidad humectante no presenta diferencias estadísticamente significativas en su valor de capacitancia eléctrica respecto al vehículo solo, a todos los tiempo estudiados.
4. A las concentraciones empleadas, las emulsiones que contenían aceite de rosa mosqueta y aceite de Emú además del vehículo, disminuyeron significativamente su capacidad humectante a través del tiempo.
5. A las concentraciones empleadas, la emulsión que contenía extracto de baba de caracol presentó una capacidad humectante significativamente inferior a la emulsión de aceite de Emú entre los treinta y noventa minutos.
6. A las concentraciones empleadas, las emulsiones que contenía extracto de *Imperata cylíndrica R.* y aceite de rosa mosqueta no presentaron diferencias estadísticamente significativas en su capacidad humectante

respecto al preparado de aceite de Emú durante las dos horas de estudio.

7. La incorporación de aceite de rosa mosqueta, extracto de *Imperata cylíndrica R.* y extracto de baba de caracol junto con el aceite de Emú no produjeron un aumento en los valores de capacitancia eléctrica respecto al preparado de aceite de Emú solo, sin embargo lograron favorecer el efecto humectante del aceite de Emú al mantenerlo constante durante todo el estudio.

8. REFERENCIAS

- (1) PONS, L. y PARRA, J.L. 1995. La piel y sus anexos como sustrato vivo de la cosmetología. En: Ciencia Cosmética. Editado por el Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos Madrid-España. Capítulo I. pp 1-80
- (2) RODRIGUEZ I, 1998. Agentes promotores de la permeación percutánea. *Cubana Farm*; 31(1):68-75
- (3) VIGLIOGLIA, P. y RUBIN, J . 1989. Biología cutánea la piel normal. En: *Cosmiatria II* . Ap Americana de publicaciones S.A, Buenos Aires, Argentina. pp 22-74
- (4) FORSLIND B. A.Domain Mosaic Model of the Skin Barrier. Acta Derm. Veneorol (Stock.),74:1-6.1994.
- (5) DOWNING D.T. Lipids: Their Role in Epidermal Structure and Function. Cosmetics & Toiletries, 106(12): 63-69. 1991.
- (6) WALTERS K., ROBERTS M. The Structure and Function of Skin En: *Transdermal Dermatological and formulations*. Editado por K. Walters, Marcel Dekker, Inc. 2002.pp.1-40.
- (7) S.E. Friberg, Z. Ma. Stratum Corneum lipids, Petrolatum and White Oils. Cosmetics & Toiletries, 108 (7): 55-61. 1993.
- (8) HERNANDEZ, E. 1997. Processing of Oils for Cosmetic and Pharmaceutical Uses: Applications to Ratite Oil. En: 88th AMERICAN OIL chemist's Society annual meeting: Mayo de 1997. Seattle WA, Universidad A&M, Food Research & Development Center. pp.s.p.
- (9) MARTIN, M. y RIEGER. Skin, Water and Moisturization. Cosmetic & Toiletries 104(12):41-51. 1989.

- (10) SAGIV A.E., DIKSTEIN S., INGBER A. The efficiency of humectants as skin moisturizers in the presence of oil. Skin Res Technol,7(1):32-35. feb 2001.
- (11) IBSON B., Dry Skin Moisturizing and Emolliency. Cosmetic & Toiletries 107(7): 69 -78. julio 1992.
- (12) Ardell H. Nelson de Vanderpool, Patente 6.303.132 de los E.E.U.U.Oct.2001, [en línea] <www.emu-spirit.com/emunews>.
- (13) Effect of emu oil on auricular inflammation induced with croton oil in mice por Alfonso López “et al”. AJVR, 60(12):1558-1561, Diciembre 1999.
- (14) Department of Dermatology; Occupational Dermatology Laboratory, University of Texas Medical School at Houston, Report on Emu Oil in the Rabbit Ear [en línea]<www.uniquelyemu.com/emu_oil_1.htm>
- (15) MOISTURIZING and Cosmetic Properties of Emu Oil: A Pilot Double Blind study por ZEMTSOV A. “et al”. Australas J Dermatol, 37(3):159-165, agosto 1996.
- (16) RIFFO M. 2004. Estudio de la capacidad humectante del Aceite de Emú utilizando el Corneómetro CM 825[®]. Memoria para obtener el título de Químico Farmacéutico de la Universidad de Chile
- (17) EMU OIL Research Study Summary's [en línea] <http://www.uniquelyemu.com/article_12.htm>
- (18) LAMPE,M.A.(1983) Human stratum Corneum lipids: caracterizazation and regional variations. J.Lipid Research.24: 124-130.
- (19) Paul Smith, Margaret Craig-schmidt, Amanda Brown, Fatty Acid Analisis of Emu Oil. Sep. 1996 [en línea] <www.aea-emu.org>

- (20) Dra. Bertha Pareja. Folia. Dermatol. (Perú) 1996; 7 (3/4): 48-2
DERMOFARMACIA Plantas medicinales con aplicaciones en
Dermatología y Cosmética [en línea] <
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/fofia/Vol7_N3-4/plantas.htm> Consulta 3 de mayo 2006
- (21) VALLADARES J. Et Al. 1986. Crema de semilla de mosqueta (*Rosa moschata L*) II parte: Estudio de las propiedades fisicoquímicas, de estabilidad, eficacia cosmética y aplicación sistemática en clínica. An Real Acad. Farm. 51: 597-612.
- (22) Hernandez Ernesto, Oils from the Ratite Family, [en línea] <www.windyridgeonline.com> consulta 5 de mayo 2006.
- (23) Masson L., Mella M. 1985. Materias grasas de consumo habitual y potencial en Chile. U. De Chile. pp 23
- (24) Bascuñan F. Patente de Invención Chile Nº 38615 Dic 1992 consulta en línea <www.dpi.cl>
- (25) P.LEVENE, P.A. 1925. The mucoproteins of the snails, *Helix aspersa*, *Helix pomatia*. J. biol. Chem. 65: 683-700.
- (26) KUNKEL. 1984. Plants for human consumption Koeltz Scientific Books ISBN 3874292169.
- (27) PINKAS & PENG, 1996 Plantes médicinales chinoises. Edts Maloine, Paris.
- (28) Yancey PH (1994) Compatible and counteracting solutes. In K Strange, eds, Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 81-109
- (29) LINTNER K. Compositions a usage cosmetique ou Dermopharmaceutique contentant un extrait d'imperata notemment d' *Imperata Cylindrica L*. Patente FR 2805161 . 24 de Agosto 2001.

- (30)** ESPEJO,C y FERNÁNDEZ,J. 1997. Valoración de la hidratación cutánea por métodos de exploración no invasivos. *Piel*.12(6) 323-29
- (31)** BAREL, A. y CLARYS,P. 1997. In vitro calibration of the capacitance method (Corneometer CM 825) and conductance method (Skicon-200) for the evaluation of the hydration state of the skin. *Skin Research and Technology* 3(2) 107-113.
- (32)** EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods. *Skin research and technology*, 3(2):126-132. mayo 1997.
- (33)** Courage-Khazaka Electronic. 1997. Instruction manual of the Corneometer CM 825® and personal communication, Kiln, Germany.
- (34)** MOSS y JUDI.The effect of 3 moisturisers on skin surface hydration: Electrical conductance (Skicon-200), capacitance (Corneometer CM 420), and transepidermal water loss (TEWL). *Skin Research and Technology*, 2(1) :32-36. 1996.
- (35)** YOSIPOVITCH, G. "et al". 1998. Time-Dependent Variations of the Skin Barrier Function in Humans: Transepidermal Water Loss, Stratum Corneum Hydration, Skin Surface pH, and Skin Temperature. *J Invest Dermatol* 110(1):20-23.
- (36)** Tanojo, H.1996. Fatty Acids as enhancers of drugs permeation across human skin. Capítulo 10. pp 122- 128

9. ANEXOS

Anexo 1: Consentimiento informado de participación

Titulo del trabajo: Estudio de la capacidad humectante de distintos agentes humectantes utilizando el Corneometer® CM 825.

Introducción: Antes de acceder a participar en este estudio, es importante que lea detenidamente y comprenda lo que se explica en este documento. El cual describe el propósito, procedimientos, riesgos, molestias y precauciones del estudio. También describe el derecho a abandonar el estudio en cualquier período. El que usted rehúse a participar en el estudio no influirá para nada en el tratamiento que se les dé a los otros voluntarios participantes.

Objetivos del estudio:

Yo _____ he accedido a participar en este trabajo de investigación bajo la dirección del académico Sra. Olosmira Correa. El propósito del estudio es establecer el grado de capacitancia eléctrica de la piel luego de la aplicación de distintos productos cosméticos, durante un tiempo determinado.

Duración: Mi participación en este estudio será por 1 sesión. Esto exigirá que permanezca 3 horas por sesión en el lugar de desarrollo del estudio. Además deberé respetar las restricciones establecidas mientras dure la experiencia.

Procedimiento: Se me ha informado que 48 horas antes del inicio de la experiencia, deberé de abstenerme de utilizar cualquier otro producto de uso tópico (cremas, jabones, pomadas, colonias) en ambos brazos. El día designado para la experiencia deberé llegar al laboratorio puntualmente. El investigador procederá a limpiar y luego delimitar con un lápiz marcador las zonas del antebrazo en las que se aplicarán los productos a ensayar. Durante este tiempo deberé permanecer tranquilo, sin hacer movimientos innecesarios, este período se llama de equilibrio y es fundamental para el buen resultado del trabajo. Al término del período de equilibrio se realizará la determinación de la humedad con un instrumento que tocará suavemente la piel y no sentiré ninguna molestia. El estudio se hará simultáneamente en brazo izquierdo y derecho. Las próximas mediciones se realizarán 30, 60 y 120 minutos después de iniciado el estudio, por lo que el voluntario deberá permanecer tranquilo en el tiempo de estudio estipulado, sin salir del lugar ni efectuar movimientos bruscos que puedan afectar los resultados.

Modo de aplicación de los productos designados: Se aplicará en 8 espacios delimitados sobre la piel en ambos antebrazos mediante una jeringa rotulada una cantidad determinada de una serie de cremas, esparciéndose en forma circular por el investigador.

Riesgos y molestias: He sido informado que no existen riesgos predecibles, efectos laterales y/o molestias para los sujetos involucrados en este estudio. Todas las mediciones son no-invasivas, es decir, el instrumento que determina la humedad sólo se presiona levemente sobre la piel, sin penetración. Existe la posibilidad remota que alguna persona pudiera experimentar alergia a algún componente de los productos (cremas), por tanto si eventualmente se presentara inflamación o irritación, se procederá a lavar la zona y se aplicará un medicamento tópico para aliviar la molestia.

Beneficios: No recibiré beneficios económicos directos de mi participación en este estudio.

Confidencialidad: Este es un estudio confidencial en cuanto a mi identidad. Cuando se publiquen los resultados no se me identificará por mi nombre. Mientras se esté desarrollando el trabajo, los datos que se vayan obteniendo pueden ser revisados por organismos supervisores competentes como organismos de control estatal o universitario.

Costos de salud adicionales: No existen fondos disponibles para cubrir costos de atención médica y medicamentos no relacionados con el estudio.

Compensación en caso de daño: En la eventualidad de algún daño resultante de los procedimientos de esta investigación, he sido informado que no existen formas de compensación disponibles. El tratamiento médico deberá ser por medio del sistema de salud que tengo contratado (Fonasa o Isapre).

Derecho a rehusar participar o a abandonar el estudio una vez comenzado: Entiendo que mi participación es voluntaria y que puedo rehusarme a participar o puedo decidir no continuar en cualquier momento. Entiendo también que los investigadores encargados pueden retirarme en cualquier momento del estudio si no cumplo con las reglas establecidas para mi participación. En la eventualidad de mi retiro todos los datos anteriores obtenidos de mi participación serán eliminados del estudio.

Obligación de informar participación en otros estudios:

Si estoy participando en otro estudio clínico tengo la obligación de informarlo para que el equipo de investigación evalúe la compatibilidad de ambos estudios.

DECLARO QUE HE LEIDO LA INFORMACION PREVIA. ACCEDO VOLUNTARIAMENTE A PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO. DESPUES QUE FIRME RECIBIRE UNA COPIA DE MI CONSENTIMIENTO

Nombre:

Firma:

RUT:

Fecha:

Dirección:

Teléfono:

e-mail:

Teléfono Celular:

Nombre del Investigador:

Firma del investigador:

Anexo 2: Análisis estadístico de valores de capacitancia eléctrica de las emulsiones (valores obtenidos mediante programa Statgraphics versión 5.0)

Multiple-Sample Comparison (Tiempo=0)

Analysis Summary

Tiempo =0

Sample 1: Control

Sample 2: Vehículo

Sample 3: Rosa Mosq_

Sample 4: Imperata

Sample 5: Caracol

Sample 6: Emu

Sample 7: Emu_Rosa

Sample 8: Emu_imper_

Sample 9: Emu_Caracol

Selection variable: Tiempo=0

Sample 1: 38 values ranging from 19,0 to 38,0

Sample 2: 38 values ranging from 23,0 to 35,0

Sample 3: 38 values ranging from 20,0 to 33,0

Sample 4: 38 values ranging from 21,0 to 34,0

Sample 5: 38 values ranging from 22,0 to 35,0

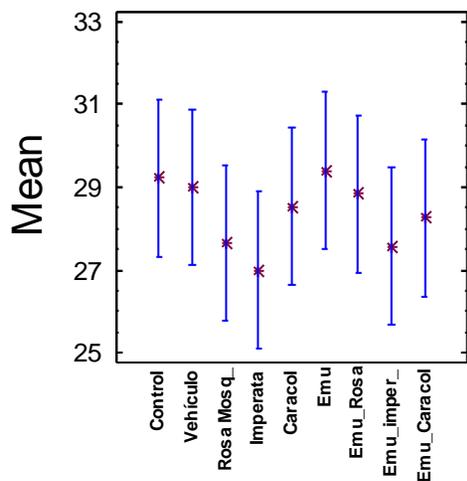
Sample 6: 38 values ranging from 20,0 to 37,0

Sample 7: 38 values ranging from 22,0 to 40,0

Sample 8: 38 values ranging from 17,0 to 35,0

Sample 9: 38 values ranging from 21,0 to 38,0

Means and 95,0 Percent Scheffe Intervals



Summary Statistics

	Count	Average	Median	Geometric mean	Variance
Control	38	29,2368	28,0	28,8277	24,1316
Vehículo	38	29,0	29,0	28,8572	8,32432
Rosa Mosq_	38	27,6579	27,0	27,4481	11,4744
Imperata	38	27,0	26,0	26,8248	9,94595
Caracol	38	28,5263	29,0	28,3181	11,9858

Emu	38	29,3947	29,5	29,0068	22,5697
Emu_Rosa	38	28,8421	28,5	28,5133	20,3528
Emu_imper_	38	27,5789	27,0	27,1632	21,926
Emu_Caracol	38	28,2632	27,5	27,8375	25,2802

Total	342	28,3889	28,0	28,0783	17,5345
-------	-----	---------	------	---------	---------

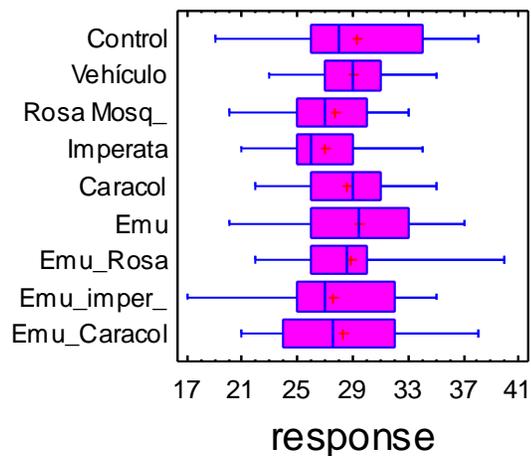
	Standard deviation	Minimum	Maximum	Range	Skewness
Control	4,91239	19,0	38,0	19,0	0,0659617
Vehículo	2,88519	23,0	35,0	12,0	-0,185302
Rosa Mosq_	3,38739	20,0	33,0	13,0	-0,274328
Imperata	3,15372	21,0	34,0	13,0	0,491139
Caracol	3,46205	22,0	35,0	13,0	-0,0754625
Emu	4,75076	20,0	37,0	17,0	-0,132035
Emu_Rosa	4,5114	22,0	40,0	18,0	0,694375
Emu_imper_	4,68252	17,0	35,0	18,0	-0,349117
Emu_Caracol	5,02794	21,0	38,0	17,0	0,388481

Total	4,18743	17,0	40,0	23,0	0,164678
-------	---------	------	------	------	----------

	Std. skewness	Kurtosis	Std. kurtosis
Control	0,166	-0,763789	-0,96108
Vehículo	-0,466334	-0,398746	-0,501745
Rosa Mosq_	-0,690377	-0,271679	-0,341856
Imperata	1,236	-0,279929	-0,352237
Caracol	-0,18991	-0,775628	-0,975977
Emu	-0,33228	-0,728167	-0,916257
Emu_Rosa	1,74747	0,141403	0,177929
Emu_imper_	-0,878591	-0,241264	-0,303583
Emu_Caracol	0,977655	-0,962726	-1,2114

Total	1,24329	-0,259128	-0,978185
-------	---------	-----------	-----------

Box-and-Whisker Plot



ANOVA Table

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	207,62	8	25,9525	1,50	0,1569
Within groups	5771,66	333	17,3323		
Total (Corr.)	5979,28	341			

Multiple Range Tests

Method: 95,0 percent Bonferroni

	Count	Mean	Homogeneous Groups
Imperata	38	27,0	X
Emu_imper_	38	27,5789	X
Rosa Mosq_	38	27,6579	X
Emu_Caracol	38	28,2632	X
Caracol	38	28,5263	X
Emu_Rosa	38	28,8421	X
Vehículo	38	29,0	X
Control	38	29,2368	X
Emu	38	29,3947	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Control - Vehículo	0,236842	3,07935
Control - Rosa Mosq_	1,57895	3,07935
Control - Imperata	2,23684	3,07935
Control - Caracol	0,710526	3,07935
Control - Emu	-0,157895	3,07935
Control - Emu_Rosa	0,394737	3,07935
Control - Emu_imper_	1,65789	3,07935
Control - Emu_Caracol	0,973684	3,07935
Vehículo - Rosa Mosq_	1,34211	3,07935
Vehículo - Imperata	2,0	3,07935
Vehículo - Caracol	0,473684	3,07935
Vehículo - Emu	-0,394737	3,07935
Vehículo - Emu_Rosa	0,157895	3,07935
Vehículo - Emu_imper_	1,42105	3,07935
Vehículo - Emu_Caracol	0,736842	3,07935
Rosa Mosq_ - Imperata	0,657895	3,07935
Rosa Mosq_ - Caracol	-0,868421	3,07935
Rosa Mosq_ - Emu	-1,73684	3,07935
Rosa Mosq_ - Emu_Rosa	-1,18421	3,07935
Rosa Mosq_ - Emu_imper_	0,0789474	3,07935
Rosa Mosq_ - Emu_Caracol	-0,605263	3,07935
Imperata - Caracol	-1,52632	3,07935
Imperata - Emu	-2,39474	3,07935
Imperata - Emu_Rosa	-1,84211	3,07935
Imperata - Emu_imper_	-0,578947	3,07935
Imperata - Emu_Caracol	-1,26316	3,07935
Caracol - Emu	-0,868421	3,07935
Caracol - Emu_Rosa	-0,315789	3,07935
Caracol - Emu_imper_	0,947368	3,07935
Caracol - Emu_Caracol	0,263158	3,07935
Emu - Emu_Rosa	0,552632	3,07935
Emu - Emu_imper_	1,81579	3,07935
Emu - Emu_Caracol	1,13158	3,07935
Emu_Rosa - Emu_imper_	1,26316	3,07935
Emu_Rosa - Emu_Caracol	0,578947	3,07935
Emu_imper_ - Emu_Caracol	-0,684211	3,07935

* denotes a statistically significant difference.

Kruskall-Wallis Test

	Sample Size	Average Rank
Control	38	187,724
Vehículo	38	191,513
Rosa Mosq_	38	157,368
Imperata	38	135,553
Caracol	38	177,645
Emu	38	194,816
Emu_Rosa	38	176,855
Emu_imper_	38	158,592
Emu_Caracol	38	163,434

Test statistic = 11,7172 P-Value = 0,164276

Multiple-Sample Comparison (Tiempo=30)

Analysis Summary

Tiempo=30

Sample 1: Control

Sample 2: Vehículo

Sample 3: Rosa Mosq_

Sample 4: Imperata

Sample 5: Caracol

Sample 6: Emu

Sample 7: Emu_Rosa

Sample 8: Emu_imper_

Sample 9: Emu_Caracol

Selection variable: Tiempo=30

Sample 1: 38 values ranging from 18,0 to 43,0

Sample 2: 38 values ranging from 34,0 to 48,0

Sample 3: 38 values ranging from 35,0 to 50,0

Sample 4: 38 values ranging from 32,0 to 52,0

Sample 5: 38 values ranging from 30,0 to 45,0

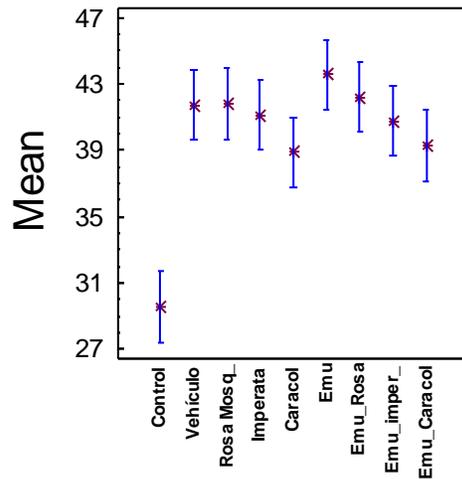
Sample 6: 38 values ranging from 32,0 to 53,0

Sample 7: 38 values ranging from 34,0 to 49,0

Sample 8: 38 values ranging from 30,0 to 50,0

Sample 9: 38 values ranging from 31,0 to 47,0

Means and 95,0 Percent Scheffe Intervals



Summary Statistics

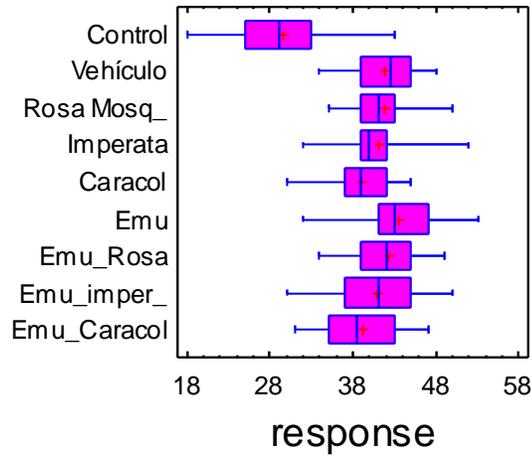
	Count	Average	Median	Geometric mean	Variance
Control	38	29,5789	29,0	29,0039	35,4395
Vehículo	38	41,7368	42,5	41,5253	17,5505
Rosa Mosq_	38	41,7895	41,0	41,6351	13,468
Imperata	38	41,1053	40,0	40,8536	22,3129
Caracol	38	38,8684	39,0	38,6852	13,9552
Emu	38	43,5526	43,0	43,2905	22,6323
Emu_Rosa	38	42,2105	42,0	41,9968	17,9545
Emu_imper_	38	40,7632	41,0	40,3892	29,6991
Emu_Caracol	38	39,2632	38,5	38,9843	22,4694
Total	342	39,8743	41,0	39,3627	36,3448

	Standard deviation	Minimum	Maximum	Range	Skewness
Control	5,95311	18,0	43,0	25,0	0,489932
Vehículo	4,18933	34,0	48,0	14,0	-0,398352
Rosa Mosq_	3,66988	35,0	50,0	15,0	0,436985
Imperata	4,72366	32,0	52,0	20,0	0,913045
Caracol	3,73566	30,0	45,0	15,0	-0,593804
Emu	4,75734	32,0	53,0	21,0	-0,290858
Emu_Rosa	4,23727	34,0	49,0	15,0	-0,354712
Emu_imper_	5,44969	30,0	50,0	20,0	-0,438143
Emu_Caracol	4,74019	31,0	47,0	16,0	0,114362
Total	6,02867	18,0	53,0	35,0	-0,72972

	Std. skewness	Kurtosis	Std. kurtosis
Control	1,23297	0,334765	0,421237
Vehículo	-1,0025	-0,950093	-1,19551
Rosa Mosq_	1,09972	-0,208521	-0,262383
Imperata	2,29778	0,929227	1,16925
Caracol	-1,49437	0,0410604	0,0516665
Emu	-0,731976	0,145985	0,183694
Emu_Rosa	-0,892672	-0,584983	-0,736087
Emu_imper_	-1,10264	-0,702822	-0,884365

Emu_Caracol	0,287806	-1,11353	-1,40116
Total	-5,50926	0,795634	3,00345

Box-and-Whisker Plot



ANOVA Table

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	5160,78	8	645,097	29,70	0,0000
Within groups	7232,82	333	21,7202		
Total (Corr.)	12393,6	341			

Multiple Range Tests

Method: 95,0 percent Bonferroni

	Count	Mean	Homogeneous Groups
Control	38	29,5789	X
Caracol	38	38,8684	X
Emu_Caracol	38	39,2632	X
Emu_imper_	38	40,7632	XX
Imperata	38	41,1053	XX
Vehículo	38	41,7368	XX
Rosa Mosq_	38	41,7895	XX
Emu_Rosa	38	42,2105	XX
Emu	38	43,5526	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Control - Vehículo	*-12,1579	3,44717
Control - Rosa Mosq_	*-12,2105	3,44717
Control - Imperata	*-11,5263	3,44717
Control - Caracol	*-9,28947	3,44717
Control - Emu	*-13,9737	3,44717
Control - Emu_Rosa	*-12,6316	3,44717
Control - Emu_imper_	*-11,1842	3,44717

Control - Emu_Caracol	*-9,68421	3,44717
Vehículo - Rosa Mosq_	-0,0526316	3,44717
Vehículo - Imperata	0,631579	3,44717
Vehículo - Caracol	2,86842	3,44717
Vehículo - Emu	-1,81579	3,44717
Vehículo - Emu_Rosa	-0,473684	3,44717
Vehículo - Emu_imper_	0,973684	3,44717
Vehículo - Emu_Caracol	2,47368	3,44717
Rosa Mosq_ - Imperata	0,684211	3,44717
Rosa Mosq_ - Caracol	2,92105	3,44717
Rosa Mosq_ - Emu	-1,76316	3,44717
Rosa Mosq_ - Emu_Rosa	-0,421053	3,44717
Rosa Mosq_ - Emu_imper_	1,02632	3,44717
Rosa Mosq_ - Emu_Caracol	2,52632	3,44717
Imperata - Caracol	2,23684	3,44717
Imperata - Emu	-2,44737	3,44717
Imperata - Emu_Rosa	-1,10526	3,44717
Imperata - Emu_imper_	0,342105	3,44717
Imperata - Emu_Caracol	1,84211	3,44717
Caracol - Emu	*-4,68421	3,44717
Caracol - Emu_Rosa	-3,34211	3,44717
Caracol - Emu_imper_	-1,89474	3,44717
Caracol - Emu_Caracol	-0,394737	3,44717
Emu - Emu_Rosa	1,34211	3,44717
Emu - Emu_imper_	2,78947	3,44717
Emu - Emu_Caracol	*4,28947	3,44717
Emu_Rosa - Emu_imper_	1,44737	3,44717
Emu_Rosa - Emu_Caracol	2,94737	3,44717
Emu_imper_ - Emu_Caracol	1,5	3,44717

* denotes a statistically significant difference.

Kruskall-Wallis Test

	Sample Size	Average Rank
Control	38	41,6711
Vehículo	38	202,066
Rosa Mosq_	38	197,934
Imperata	38	177,211
Caracol	38	142,987
Emu	38	232,724
Emu_Rosa	38	210,434
Emu_imper_	38	185,329
Emu_Caracol	38	153,145

Test statistic = 98,0187 P-Value = 0,0

Multiple-Sample Comparison (Tiempo=60)

Analysis Summary

Tiempo=60

Sample 1: Control

Sample 2: Vehículo

Sample 3: Rosa Mosq_

Sample 4: Imperata

Sample 5: Caracol

Sample 6: Emu

Sample 7: Emu_Rosa

Sample 8: Emu_imper_

Sample 9: Emu_Caracol

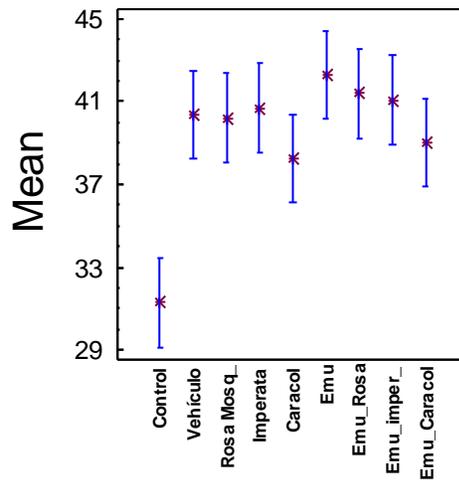
Selection variable: Tiempo=60

Sample 1: 38 values ranging from 22,0 to 42,0

Sample 2: 38 values ranging from 34,0 to 47,0

Sample 3: 38 values ranging from 31,0 to 46,0
 Sample 4: 38 values ranging from 33,0 to 53,0
 Sample 5: 38 values ranging from 30,0 to 45,0
 Sample 6: 38 values ranging from 33,0 to 56,0
 Sample 7: 38 values ranging from 31,0 to 48,0
 Sample 8: 38 values ranging from 27,0 to 51,0
 Sample 9: 38 values ranging from 32,0 to 48,0

Means and 95,0 Percent Scheffe Intervals



Summary Statistics

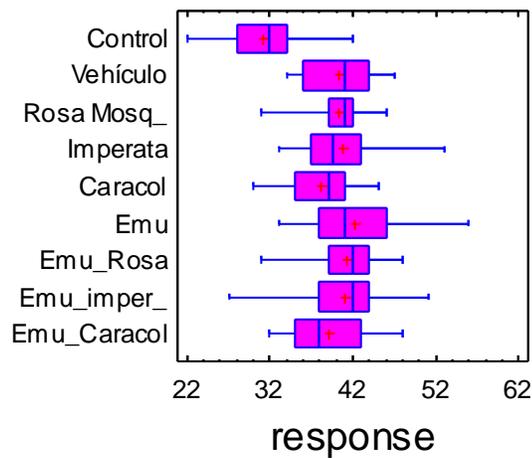
	Count	Average	Median	Geometric mean	Variance
Control	38	31,3158	32,0	30,9189	25,5192
Vehículo	38	40,3684	41,0	40,1631	16,8336
Rosa Mosq_	38	40,2105	41,0	40,063	11,468
Imperata	38	40,6842	39,5	40,3982	25,357
Caracol	38	38,2368	39,0	38,0354	15,3208
Emu	38	42,2895	41,0	41,9387	31,4545
Emu_Rosa	38	41,3684	42,0	41,1622	16,5633
Emu_imper_	38	41,0526	42,0	40,6244	32,862
Emu_Caracol	38	39,0	38,0	38,6995	24,0541
Total	342	39,3918	40,0	38,9738	31,1188

	Standard deviation	Minimum	Maximum	Range	Skewness
Control	5,05165	22,0	42,0	20,0	0,271818
Vehículo	4,10287	34,0	47,0	13,0	-0,0736509
Rosa Mosq_	3,38644	31,0	46,0	15,0	-0,918497
Imperata	5,03558	33,0	53,0	20,0	0,956265
Caracol	3,91418	30,0	45,0	15,0	-0,34456
Emu	5,60843	33,0	56,0	23,0	0,595991
Emu_Rosa	4,0698	31,0	48,0	17,0	-0,700524
Emu_imper_	5,73254	27,0	51,0	24,0	-0,749319
Emu_Caracol	4,90449	32,0	48,0	16,0	0,113173
Total	5,57842	22,0	56,0	34,0	-0,292506
	Std. skewness	Kurtosis	Std. kurtosis		

Control	0,684061	0,00353244	0,00444488
Vehículo	-0,185351	-1,19865	-1,50826
Rosa Mosq_	-2,3115	1,29678	1,63174
Imperata	2,40655	0,400552	0,504017
Caracol	-0,867124	-0,552515	-0,695233
Emu	1,49988	0,128724	0,161974
Emu_Rosa	-1,76295	0,339203	0,426822
Emu_imper_	-1,88574	0,513583	0,646245
Emu_Caracol	0,284812	-1,21296	-1,52627

Total	-2,20837	0,44115	1,6653

Box-and-Whisker Plot



ANOVA Table

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	3232,5	8	404,062	18,23	0,0000
Within groups	7379,0	333	22,1592		

Total (Corr.)	10611,5	341			

Multiple Range Tests

Method: 95,0 percent Bonferroni			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
Control	38	31,3158	X
Caracol	38	38,2368	X
Emu_Caracol	38	39,0	XX
Rosa Mosq_	38	40,2105	XX
Vehículo	38	40,3684	XX
Imperata	38	40,6842	XX
Emu_imper_	38	41,0526	XX
Emu_Rosa	38	41,3684	XX
Emu	38	42,2895	X

Contrast		Difference	+/- Limits

Control - Vehículo	*-9,05263	3,48183
Control - Rosa Mosq_	*-8,89474	3,48183
Control - Imperata	*-9,36842	3,48183
Control - Caracol	*-6,92105	3,48183
Control - Emu	*-10,9737	3,48183
Control - Emu_Rosa	*-10,0526	3,48183
Control - Emu_imper_	*-9,73684	3,48183
Control - Emu_Caracol	*-7,68421	3,48183
Vehículo - Rosa Mosq_	0,157895	3,48183
Vehículo - Imperata	-0,315789	3,48183
Vehículo - Caracol	2,13158	3,48183
Vehículo - Emu	-1,92105	3,48183
Vehículo - Emu_Rosa	-1,0	3,48183
Vehículo - Emu_imper_	-0,684211	3,48183
Vehículo - Emu_Caracol	1,36842	3,48183
Rosa Mosq_ - Imperata	-0,473684	3,48183
Rosa Mosq_ - Caracol	1,97368	3,48183
Rosa Mosq_ - Emu	-2,07895	3,48183
Rosa Mosq_ - Emu_Rosa	-1,15789	3,48183
Rosa Mosq_ - Emu_imper_	-0,842105	3,48183
Rosa Mosq_ - Emu_Caracol	1,21053	3,48183
Imperata - Caracol	2,44737	3,48183
Imperata - Emu	-1,60526	3,48183
Imperata - Emu_Rosa	-0,684211	3,48183
Imperata - Emu_imper_	-0,368421	3,48183
Imperata - Emu_Caracol	1,68421	3,48183
Caracol - Emu	*-4,05263	3,48183
Caracol - Emu_Rosa	-3,13158	3,48183
Caracol - Emu_imper_	-2,81579	3,48183
Caracol - Emu_Caracol	-0,763158	3,48183
Emu - Emu_Rosa	0,921053	3,48183
Emu - Emu_imper_	1,23684	3,48183
Emu - Emu_Caracol	3,28947	3,48183
Emu_Rosa - Emu_imper_	0,315789	3,48183
Emu_Rosa - Emu_Caracol	2,36842	3,48183
Emu_imper_ - Emu_Caracol	2,05263	3,48183

* denotes a statistically significant difference.

Kruskall-Wallis Test

	Sample Size	Average Rank
Control	38	49,6711
Vehículo	38	189,066
Rosa Mosq_	38	186,184
Imperata	38	181,408
Caracol	38	144,776
Emu	38	213,237
Emu_Rosa	38	210,816
Emu_imper_	38	206,803
Emu_Caracol	38	161,539

Test statistic = 81,2074 P-Value = 0,0

Multiple-Sample Comparison (Tiempo=90)

Analysis Summary

Tiempo=90

Sample 1: Control

Sample 2: Vehículo

Sample 3: Rosa Mosq_

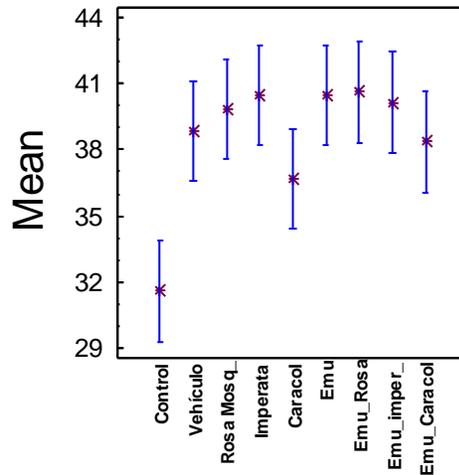
Sample 4: Imperata

Sample 5: Caracol

Sample 6: Emu
 Sample 7: Emu_Rosa
 Sample 8: Emu_imper_
 Sample 9: Emu_Caracol
 Selection variable: Tiempo=90

Sample 1: 38 values ranging from 21,0 to 46,0
 Sample 2: 38 values ranging from 32,0 to 44,0
 Sample 3: 38 values ranging from 33,0 to 45,0
 Sample 4: 38 values ranging from 32,0 to 55,0
 Sample 5: 38 values ranging from 27,0 to 47,0
 Sample 6: 38 values ranging from 29,0 to 52,0
 Sample 7: 38 values ranging from 32,0 to 48,0
 Sample 8: 38 values ranging from 27,0 to 49,0
 Sample 9: 38 values ranging from 32,0 to 47,0

Means and 95,0 Percent Scheffe Intervals



Summary Statistics

	Count	Average	Median	Geometric mean	Variance
Control	38	31,6053	31,0	31,0224	40,0292
Vehículo	38	38,8421	39,0	38,6502	14,623
Rosa Mosq_	38	39,8158	40,0	39,7044	8,9111
Imperata	38	40,4737	39,0	40,1343	30,7425
Caracol	38	36,6842	36,0	36,3295	26,6003
Emu	38	40,4737	41,0	40,0559	33,7155
Emu_Rosa	38	40,6053	42,0	40,3837	17,9751
Emu_imper_	38	40,1316	40,5	39,7313	30,7119
Emu_Caracol	38	38,3684	37,5	38,0855	22,6714

	Standard deviation	Minimum	Maximum	Range	Skewness
Control	6,32686	21,0	46,0	25,0	0,780775
Vehículo	3,82401	32,0	44,0	12,0	-0,613012
Rosa Mosq_	2,98515	33,0	45,0	12,0	-0,352362
Imperata	5,54459	32,0	55,0	23,0	1,25317
Caracol	5,15755	27,0	47,0	20,0	0,142985
Emu	5,80651	29,0	52,0	23,0	-0,118149

Emu_Rosa	4,23971	32,0	48,0	16,0	-0,266934
Emu_imper_	5,54184	27,0	49,0	22,0	-0,537991
Emu_Caracol	4,76145	32,0	47,0	15,0	0,321087

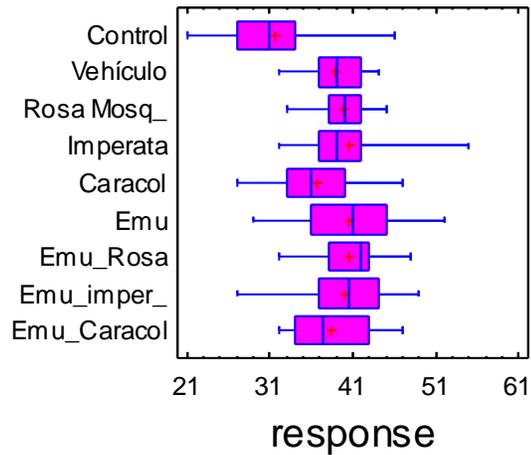
Total	5,66112	21,0	55,0	34,0	-0,225033

	Std. skewness	Kurtosis	Std. kurtosis		

Control	1,96491	0,378053	0,475706		
Vehículo	-1,54271	-0,759895	-0,95618		
Rosa Mosq_	-0,886759	-0,378084	-0,475745		
Imperata	3,15374	1,27499	1,60433		
Caracol	0,359837	-0,58301	-0,733605		
Emu	-0,297335	-0,600857	-0,756061		
Emu_Rosa	-0,671769	-0,607591	-0,764535		
Emu_imper_	-1,35391	0,120163	0,151202		
Emu_Caracol	0,808052	-1,3053	-1,64247		

Total	-1,69896	0,199187	0,751914		

Box-and-Whisker Plot



ANOVA Table

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	2567,18	8	320,898	12,78	0,0000
Within groups	8361,26	333	25,1089		

Total (Corr.)	10928,4	341			

Table of Means with 95,0 percent Scheffe intervals

	Count	Mean	Std. error (pooled s)	Lower limit	Upper limit
Control	38	31,6053	0,812872	29,3256	33,8849
Vehículo	38	38,8421	0,812872	36,5624	41,1218
Rosa Mosq_	38	39,8158	0,812872	37,5361	42,0955

Imperata	38	40,4737	0,812872	38,194	42,7533
Caracol	38	36,6842	0,812872	34,4045	38,9639
Emu	38	40,4737	0,812872	38,194	42,7533
Emu_Rosa	38	40,6053	0,812872	38,3256	42,8849
Emu_imper_	38	40,1316	0,812872	37,8519	42,4112
Emu_Caracol	38	38,3684	0,812872	36,0888	40,6481

Total	342	38,5556			

Multiple Range Tests

Method: 95,0 percent Bonferroni

Count Mean Homogeneous Groups

Control	38	31,6053	X
Caracol	38	36,6842	X
Emu_Caracol	38	38,3684	XX
Vehículo	38	38,8421	XX
Rosa Mosq_	38	39,8158	XX
Emu_imper_	38	40,1316	XX
Emu	38	40,4737	X
Imperata	38	40,4737	X
Emu_Rosa	38	40,6053	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Control - Vehículo	*-7,23684	3,70634
Control - Rosa Mosq_	*-8,21053	3,70634
Control - Imperata	*-8,86842	3,70634
Control - Caracol	*-5,07895	3,70634
Control - Emu	*-8,86842	3,70634
Control - Emu_Rosa	*-9,0	3,70634
Control - Emu_imper_	*-8,52632	3,70634
Control - Emu_Caracol	*-6,76316	3,70634
Vehículo - Rosa Mosq_	-0,973684	3,70634
Vehículo - Imperata	-1,63158	3,70634
Vehículo - Caracol	2,15789	3,70634
Vehículo - Emu	-1,63158	3,70634
Vehículo - Emu_Rosa	-1,76316	3,70634
Vehículo - Emu_imper_	-1,28947	3,70634
Vehículo - Emu_Caracol	0,473684	3,70634
Rosa Mosq_ - Imperata	-0,657895	3,70634
Rosa Mosq_ - Caracol	3,13158	3,70634
Rosa Mosq_ - Emu	-0,657895	3,70634
Rosa Mosq_ - Emu_Rosa	-0,789474	3,70634
Rosa Mosq_ - Emu_imper_	-0,315789	3,70634
Rosa Mosq_ - Emu_Caracol	1,44737	3,70634
Imperata - Caracol	*3,78947	3,70634
Imperata - Emu	0,0	3,70634
Imperata - Emu_Rosa	-0,131579	3,70634
Imperata - Emu_imper_	0,342105	3,70634
Imperata - Emu_Caracol	2,10526	3,70634
Caracol - Emu	*-3,78947	3,70634
Caracol - Emu_Rosa	*-3,92105	3,70634
Caracol - Emu_imper_	-3,44737	3,70634
Caracol - Emu_Caracol	-1,68421	3,70634
Emu - Emu_Rosa	-0,131579	3,70634
Emu - Emu_imper_	0,342105	3,70634
Emu - Emu_Caracol	2,10526	3,70634
Emu_Rosa - Emu_imper_	0,473684	3,70634
Emu_Rosa - Emu_Caracol	2,23684	3,70634
Emu_imper_ - Emu_Caracol	1,76316	3,70634

* denotes a statistically significant difference.

Kruskall-Wallis Test

	Sample Size	Average Rank
Control	38	68,6447
Vehículo	38	175,211
Rosa Mosq_	38	194,342
Imperata	38	190,974
Caracol	38	136,263
Emu	38	203,987
Emu_Rosa	38	208,855
Emu_imper_	38	201,079
Emu_Caracol	38	164,145

Test statistic = 62,8676 P-Value = 1,27227E-10

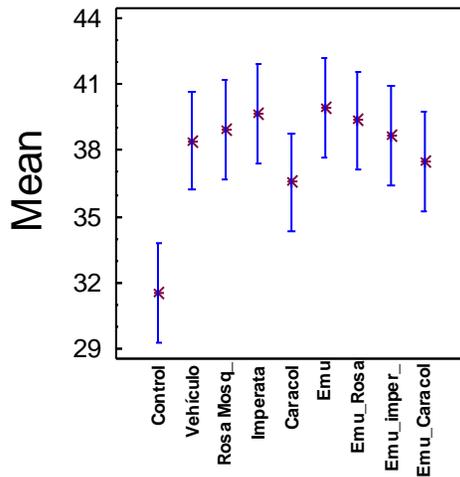
Multiple-Sample Comparison (Tiempo=120)

Analysis Summary

Sample 1: Control
Sample 2: Vehículo
Sample 3: Rosa Mosq_
Sample 4: Imperata
Sample 5: Caracol
Sample 6: Emu
Sample 7: Emu_Rosa
Sample 8: Emu_imper_
Sample 9: Emu_Caracol
Selection variable: Tiempo=120

Sample 1: 38 values ranging from 18,0 to 43,0
Sample 2: 38 values ranging from 30,0 to 45,0
Sample 3: 38 values ranging from 31,0 to 44,0
Sample 4: 38 values ranging from 33,0 to 51,0
Sample 5: 38 values ranging from 29,0 to 44,0
Sample 6: 38 values ranging from 29,0 to 54,0
Sample 7: 38 values ranging from 28,0 to 45,0
Sample 8: 38 values ranging from 25,0 to 48,0
Sample 9: 38 values ranging from 27,0 to 47,0

Means and 95,0 Percent Scheffe Intervals



Summary Statistics

	Count	Average	Median	Geometric mean	Variance
Control	38	31,5526	33,0	30,7974	46,6863
Vehículo	38	38,4211	39,0	38,2051	16,3585
Rosa Mosq_	38	38,9211	39,0	38,7936	9,6963
Imperata	38	39,6316	39,0	39,3999	19,5363
Caracol	38	36,5526	37,0	36,3485	14,9026
Emu	38	39,9211	39,0	39,5618	30,345
Emu_Rosa	38	39,3421	40,0	39,0811	19,3663
Emu_imper_	38	38,6842	40,0	38,2559	30,5462
Emu_Caracol	38	37,5	36,5	37,1137	29,5
Total	342	37,8363	39,0	37,4097	29,4804

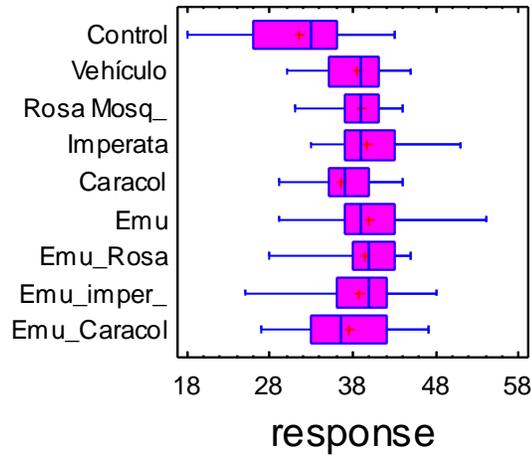
	Standard deviation	Minimum	Maximum	Range	Skewness
Control	6,83274	18,0	43,0	25,0	-0,0342751
Vehículo	4,04456	30,0	45,0	15,0	-0,46369
Rosa Mosq_	3,11389	31,0	44,0	13,0	-0,801257
Imperata	4,41999	33,0	51,0	18,0	0,702007
Caracol	3,86038	29,0	44,0	15,0	-0,264593
Emu	5,50863	29,0	54,0	25,0	0,61934
Emu_Rosa	4,40071	28,0	45,0	17,0	-0,961355
Emu_imper_	5,52686	25,0	48,0	23,0	-0,856081
Emu_Caracol	5,43139	27,0	47,0	20,0	0,0582229
Total	5,42959	18,0	54,0	36,0	-0,552199

	Std. skewness	Kurtosis	Std. kurtosis
Control	-0,0862572	-0,735367	-0,925316
Vehículo	-1,16693	-0,613511	-0,771984
Rosa Mosq_	-2,01645	0,527963	0,664339
Imperata	1,76668	0,468029	0,588924
Caracol	-0,665877	-0,566739	-0,713131
Emu	1,55864	0,762458	0,959406
Emu_Rosa	-2,41936	0,598963	0,753679
Emu_imper_	-2,15442	0,688067	0,865799

Emu_Caracol	0,146525	-1,18458	-1,49057

Total	-4,16901	0,954961	3,6049

Box-and-Whisker Plot



ANOVA Table

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	2026,15	8	253,268	10,51	0,0000
Within groups	8026,68	333	24,1042		

Total (Corr.)	10052,8	341			

Table of Means with 95,0 percent Scheffe intervals

	Count	Std. error			
		Mean	(pooled s)	Lower limit	Upper limit
Control	38	31,5526	0,796442	29,319	33,7862
Vehículo	38	38,4211	0,796442	36,1875	40,6546
Rosa Mosq_	38	38,9211	0,796442	36,6875	41,1546
Imperata	38	39,6316	0,796442	37,398	41,8652
Caracol	38	36,5526	0,796442	34,319	38,7862
Emu	38	39,9211	0,796442	37,6875	42,1546
Emu_Rosa	38	39,3421	0,796442	37,1085	41,5757
Emu_imper_	38	38,6842	0,796442	36,4506	40,9178
Emu_Caracol	38	37,5	0,796442	35,2664	39,7336

Total	342	37,8363			

Multiple Range Tests

Method: 95,0 percent Bonferroni

	Count	Mean	Homogeneous Groups
Control	38	31,5526	X

Caracol	38	36,5526	X
Emu_Caracol	38	37,5	X
Vehículo	38	38,4211	X
Emu_imper_	38	38,6842	X
Rosa Mosq_	38	38,9211	X
Emu_Rosa	38	39,3421	X
Imperata	38	39,6316	X
Emu	38	39,9211	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Control - Vehículo	*-6,86842	3,63142
Control - Rosa Mosq_	*-7,36842	3,63142
Control - Imperata	*-8,07895	3,63142
Control - Caracol	*-5,0	3,63142
Control - Emu	*-8,36842	3,63142
Control - Emu_Rosa	*-7,78947	3,63142
Control - Emu_imper_	*-7,13158	3,63142
Control - Emu_Caracol	*-5,94737	3,63142
Vehículo - Rosa Mosq_	-0,5	3,63142
Vehículo - Imperata	-1,21053	3,63142
Vehículo - Caracol	1,86842	3,63142
Vehículo - Emu	-1,5	3,63142
Vehículo - Emu_Rosa	-0,921053	3,63142
Vehículo - Emu_imper_	-0,263158	3,63142
Vehículo - Emu_Caracol	0,921053	3,63142
Rosa Mosq_ - Imperata	-0,710526	3,63142
Rosa Mosq_ - Caracol	2,36842	3,63142
Rosa Mosq_ - Emu	-1,0	3,63142
Rosa Mosq_ - Emu_Rosa	-0,421053	3,63142
Rosa Mosq_ - Emu_imper_	0,236842	3,63142
Rosa Mosq_ - Emu_Caracol	1,42105	3,63142
Imperata - Caracol	3,07895	3,63142
Imperata - Emu	-0,289474	3,63142
Imperata - Emu_Rosa	0,289474	3,63142
Imperata - Emu_imper_	0,947368	3,63142
Imperata - Emu_Caracol	2,13158	3,63142
Caracol - Emu	-3,36842	3,63142
Caracol - Emu_Rosa	-2,78947	3,63142
Caracol - Emu_imper_	-2,13158	3,63142
Caracol - Emu_Caracol	-0,947368	3,63142
Emu - Emu_Rosa	0,578947	3,63142
Emu - Emu_imper_	1,23684	3,63142
Emu - Emu_Caracol	2,42105	3,63142
Emu_Rosa - Emu_imper_	0,657895	3,63142
Emu_Rosa - Emu_Caracol	1,84211	3,63142
Emu_imper_ - Emu_Caracol	1,18421	3,63142

* denotes a statistically significant difference.

Kruskall-Wallis Test

	Sample Size	Average Rank
Control	38	82,1053
Vehículo	38	180,382
Rosa Mosq_	38	190,197
Imperata	38	194,829
Caracol	38	138,868
Emu	38	199,474
Emu_Rosa	38	202,816
Emu_imper_	38	191,75
Emu_Caracol	38	163,079

Test statistic = 47,9371 P-Value = 1,01567E-7

